UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DAS CITOCINAS IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 E DO TGF-B, PRESENTES NA SALIVA DE PACIENTES COM PERIODONTITE, ANTES E APÓS A SUBMISSÃO À PSICOTERAPIA - ANÁLISE COMPARATIVA COM PACIENTES CONTROLES

Prof. Dr. SEBASTIÃO LUIZ AGUIAR GREGHI

BAURU - SP

2011

PROF. DR. SEBASTIÃO LUIZ AGUIAR GREGHI

**AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DAS CITOCINAS IL-4, IL-6,
IL-8, IL-10 E DO TGF-B, PRESENTES NA SALIVA DE
PACIENTES COM PERIODONTITE, ANTES E APÓS A
SUBMISSÃO À PSICOTERAPIA - ANÁLISE
COMPARATIVA COM PACIENTES CONTROLES**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
de Bauru, da Universidade de São Paulo, para
obtenção do título de LIVRE-DOCENTE em
Odontologia.

BAURU - SP

2.011

Greghi, Sebastião Luiz Aguiar

G861a Avaliação quantitativa das citocinas IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 e do TGF- β , presentes na saliva de pacientes com periodontite, antes e após a submissão à psicoterapia: análise comparativa com pacientes controles/ Sebastião Luiz Aguiar Greghi - Bauru, 2011.
214 p.: il. ; 30 cm.

Tese (Livre-Docência) - Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo.

Autorizo, exclusivamente pra fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, por processos fotocopiadores e/ou meios eletrônicos.

Assinatura do autor:

Data:

Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da FOB-USP: projeto de pesquisa aprovado em 16 de novembro de 2010.

Número do protocolo: Processo nº 107/2010

Sebastião Luiz Aguiar Greghi

Dados Curriculares

29 de setembro de 1958	Nascimento
Mococa – SP	
1977 - 1980	Graduação em Odontologia na Faculdade de Odontologia de Bauru / Universidade de São Paulo
1986	Início do Curso de Pós-graduação, ao nível de Mestrado, em Periodontia, Faculdade de Odontologia de Bauru – SP, Universidade de São Paulo
1986 - 1988	Estágio na Faculdade de Cirurgia Dentária Universidade Paul Sabatier Toulouse – França
1988	Aprovação da Comissão de Pós-graduação do remanejamento para o Curso de Pós-graduação, ao nível de Doutorado em Periodontia, Faculdade de Odontologia de Bauru - SP, Universidade de São Paulo
1988 – 1991	Curso de Pós-graduação, ao nível de Doutorado, em Periodontia, Faculdade de Odontologia de Bauru - SP, Universidade de São Paulo
1995	Outorga do título de Especialista em Periodontia, pelo Conselho Regional de Odontologia de São Paulo

Dedicatória

Dedico esse trabalho à minha família:

- À minha esposa **Mônica**, pelo seu amor e apoio incondicional; e à Prof^a. Mônica, pela ajuda inestimável para que essa pesquisa multi-disciplinar pudesse ser realizada;
- Aos meus filhos **Gustavo e Daniel**, parte de nós, maior dádiva de Deus concedida ao ser humano;
- Aos meus pais, **Paschoalino** (in memorian) e **Cacilda** pela doação plena de suas vidas no cuidado, educação e concretização dos sonhos de seus filhos;
- Ao meu irmão **“Deto”** pelo espírito fraterno que sempre nos uniu, e que isso seja um exemplo para nossos filhos;
- À minha irmã **Rita**, “anjo” que Deus nos deu a honra de sermos tutores;
- Ao meu sogro **Miguel** e à minha sogra **Marianna**, que me acolheram como filho;
- Aos meus cunhados **Heliana, Déborah, Ernesto e Patrícia**, pelo amor e convivência alegre de nossas famílias;
- e aos meus sobrinhos **Gabriel, Henrique, Miguel, Vinícius, Pedro e Tomás** pela alegria que representam em nossas vidas.

Agradecimentos

- Ao meu querido amigo **Prof. Deoclécio Nahás** (in memorian) pelos seus ensinamentos tão preciosos e pela grande amizade que tivemos; certamente caro “Deo”, parte desse trabalho também é seu;

- Ao **Daniel Resende** (“Manaus”) e à **Aline** pela verdadeira amizade e apoio constante; “A amizade duplica as alegrias e divide as tristezas” (Francis Bacon)

- À **Ana Lúcia Raphaelli Nahás Nogueira**, grande amiga, e pela forma afetuosa que a mim tem dispensado ao longo de todos esses anos de convivência.

- Aos **Profs. Adriana, Carla, Euloir e Maria Lúcia** (“Malu”), colegas de Disciplina na FOB-USP, pela convivência diária e pelo empenho para que a Periodontia da FOB continue tendo o reconhecimento que sempre tivemos;

- À **Ivânia**, funcionária da Disciplina de Periodontia da FOB-USP, pelo seu apoio incondicional que muito tem me ajudado ao longo desses 25 anos de Universidade e pela sua presteza e competência que muito tem contribuído à Disciplina de Periodontia e conseqüentemente à FOB;

- À **Edilaine, “Marcão” e Neusa**, funcionários da Disciplina de Periodontia da FOB-USP, pela forma carinhosa e atenciosa que sempre me trataram ao longo de todos esses anos;

- À **Maria Ângela**, ex-secretária (aposentada) da Disciplina de Periodontia da FOB-USP, que ajudou de forma inestimável a Disciplina de Periodontia da FOB e conseqüentemente à mim;

- Ao pós-graduando ***Eduardo Aleixo Figueira***, representando todos os pós-graduandos que por mim passaram, ao longo de 25 anos de universidade, pela sua competência, presteza, amizade, realizando pela Disciplina de Periodontia da FOB-USP, muito além daqueles requisitos normais acadêmicos;
- À pós-graduanda ***“Carol” Morandini***, pela gentileza do processamento laboratorial das amostras dessa pesquisa;
- Ao ***Prof. José Roberto Lauris*** pela processamento estatístico desse estudo;
- Ao ***Prof. Luis Fernando Pegoraro***, pelo grande apoio na realização desse trabalho;
- À todos os setores administrativos da FOB (Direção e demais setores);
- À todos os docentes da FOB, pela amizade, em especial aos amigos ***Prof. Arsênio e Profª. Silvia, Prof. Carlos, Prof. Flávio, Prof. Norberti, Prof. Brandão, Profª. Ana Lúcia Almeida, Profª. Ana Lúcia Capelozza, Prof. Arnaldo, Prof. Antônio Rodrigues (“Tom”) e Prof. Jesus.***
- Aos funcionários da FOB-USP, por facilitarem muito nosso trabalho;
- Aos alunos de graduação da FOB-USP, que por mim passaram desde 1986, que deram-me a oportunidade também de aprender ensinando;
- Aos alunos dos Cursos de Especialização em Periodontia, da FOB, FUNBEO, PROFIS e APCD-Bauru, desde 1988, que com suas dúvidas, pude também me questionar e crescer.

,

Epígrafe

Onde você vê um obstáculo,
alguém vê o término da viagem
e o outro vê uma chance de crescer.
Onde você vê um motivo para se irritar,
alguém vê a tragédia total
e o outro vê uma prova para sua paciência.
Onde você vê a morte,
alguém vê o fim
e o outro vê o começo de uma nova etapa .
Onde você vê a fortuna,
alguém vê a riqueza material
e o outro pode encontrar por trás de tudo, a dor e a miséria total.
Onde você vê a teimosia,
alguém vê a ignorância,
um outro compreende as limitações do companheiro,
percebendo que cada qual caminha em seu próprio passo.
E que é inútil querer apressar o passo do outro,
a não ser que ele deseje isso.
Cada qual vê o que quer, pode ou consegue enxergar,
“Porque eu sou do tamanho do que vejo
e não do tamanho da minha altura”

Fernando Pessoa

Lista de Abreviaturas

Lista de abreviaturas

(principais termos)

- **GUNA** – gengivite ulcero necrosante aguda
- **DP**- doença periodontal
- **ACTH**- hormônio adrenocorticotrófico
- **STH** – hormônio estimulotrófico
- **TNF**- fator de necrose tumoral
- **IFN** – interferon
- **IL** – interleucina
- **Ig** – imunoglobulina
- **MMP**- matriz metaloproteinase
- **TGF** – fator de crescimento transformador
- **RANK** – receptor ativador nuclear do fator kappa B
- **RANKL** – ligante de receptor ativador nuclear do fator kappa B
- **OPG**- osteoprotegerina
- **Th** – linfócito T helper
- **EJ**- epitélio juncional
- **mRNA**- RNA mensageiro
- **GCF**- fluido gengival
- **LPS**- lipopolissacarídeo
- **PG**- prostaglandina
- **BMP**- proteína óssea morfogenética
- **NK** – natural killer
- **Aa**- Aggregatibacter actinomycetemcomitans
- **Pg**- Porphyromonas gingivalis
- **CRP**- proteína C reativa
- **PS**- profundidade de sondagem
- **IP**- índice de placa
- **IG**- índice gengival
- **NI** – nível clínico de inserção
- **OCN** - osteocalcina

Lista de Tabelas e Figuras

Lista de Tabelas e Figuras

A– Tabelas e figuras da análise estatística considerando toda a amostra (N=26)

- Tabela 1 / Figura 1 – Distribuição dos indivíduos da pesquisa por gênero..... pg. 129
- Tabela 2 / Figura 2 – Distribuição dos indivíduos da pesquisa por idade.....pg. 130
- Tabela 3 / Figura 3 – Distribuição dos indivíduos da pesquisa por tipo de doença periodontal.....pg. 131
- Tabela 4 / Figura 4 – Distribuição dos indivíduos da pesquisa pela localização da doença periodontal.....pg. 132
- Tabela 5 / Figura 5 – Distribuição dos indivíduos da pesquisa pela severidade da doença periodontal.....pg. 133
- Tabela 6 / Figura 6 – Distribuição dos indivíduos da pesquisa pela condição de estresse (avaliação psicológica).....pg. 134
- Tabela 7 / Figura 7 – Parâmetros periodontais.....pg. 135
- Tabela 8 / Figura 8 – Distribuição dos sítios quanto à profundidade de sondagem.....pg. 136
- Tabela 9 / Figura 9 – Distribuição dos sítios quanto ao índice de placa..... pg. 137
- Tabela 10 / Figura 10 – Distribuição dos sítios quanto ao índice gengival..... pg. 138
- Tabela 11 / Figura 11 – Nível de cortisol e citocinas salivares..... pg. 139
- Tabela 12 – Correlação entre parâmetros periodontais, condições de estresse, cortisol e citocinas salivarespg. 140
- Figura 12 – inexistente

B– Tabelas e figuras da análise estatística, considerando de forma separada o grupo controle e o grupo experimental

- Tabela 13 / Figura 13 – Distribuição dos indivíduos da pesquisa por gênero.....pg. 141
- Tabela 14 / Figura 14 – Distribuição dos indivíduos da pesquisa por idade..... pg. 142
- Tabela 15 / Figura 15 – Distribuição dos indivíduos da pesquisa por tipo de doença periodontal.....pg. 143
- Tabela 16 / Figura 16 – Distribuição dos indivíduos da pesquisa pela localização da doença periodontalpg. 144
- Tabela 17 / Figura 17 – Distribuição dos indivíduos da pesquisa pela severidade da doença periodontalpg. 145
- Tabela 18 / Figura 18 – Distribuição dos indivíduos da pesquisa pela condição de estresse inicial e final no grupo controle (avaliação psicológica)..... pg. 146
- Tabela 19 / Figura 19 – Distribuição dos indivíduos da pesquisa pela condição de estresse inicial e final no grupo experimental (avaliação psicológica)..... pg. 147
- Tabela 20 / Figura 20 – Comparação dos parâmetros periodontais dentro do período experimental no grupo controle e no grupo experimental.....pg. 148
- Tabela 21 / Figura 21 – Distribuição dos sítios quanto à profundidade de sondagem no grupo controle e no grupo experimental.....pg. 149
- Tabela 22 / Figura 22 – Distribuição dos sítios quanto ao índice de placa no grupo controle e no grupo experimental..... pg. 150
- Tabela 23 / Figura 23 – Distribuição dos sítios quanto ao índice gengival no grupo controle e no grupo experimental.....pg. 151
- Tabela 24 / Figura 24 – Comparação do nível de cortisol e das citocinas salivares dentro do período experimental no grupo controle e no grupo experimental..... pg. 152
- Tabela 25 – Correlação entre parâmetros periodontais, condição de estresse e citocinas salivares (início, fim, variação) no grupo controle.....pg. 153
- Figura 25 – inexistente
- Tabela 26 – Correlação entre parâmetros periodontais, condição de estresse e citocinas salivares (início, fim, variação) no grupo experimental..... pg. 154
- Figura 26 – inexistente

C– Tabelas e figuras da análise estatística dos 6 pacientes do grupo experimental que obtiveram melhora sob o ponto de vista psicoterápico

- Tabela 27 / Figura 27 – Distribuição dos indivíduos que obtiveram melhora sob o ponto de vista psicoterápico, por gênero..... pg. 155
- Tabela 28 / Figura 28 – Distribuição dos indivíduos que obtiveram melhora sob o ponto de vista psicoterápico, por idade..... pg. 156
- Tabela 29 / Figura 29 – Distribuição dos indivíduos que obtiveram melhora sob o ponto de vista psicoterápico, pela severidade da doença periodontal..... pg. 157
- Tabela 30 / Figura 30 – Distribuição dos indivíduos que obtiveram melhora sob o ponto de vista psicoterápico, pela localização da doença periodontal..... pg. 158
- Tabela 31 / Figura 31 – Distribuição dos indivíduos que obtiveram melhora sob o ponto de vista psicoterápico, pelo tipo de doença periodontal..... pg. 159
- Tabela 32 / Figura 32 – Comparação dos parâmetros periodontais no período experimental nos indivíduos que obtiveram melhora sob o ponto de vista psicoterápico..... pg. 160
- Tabela 33 / Figura 33 – Comparação do nível de cortisol e das citocinas salivares no período experimental nos indivíduos que obtiveram melhora sob o ponto de vista psicoterápico.....pg. 161
- Tabela 34– Níveis de cortisol e citocinas no início e no final do estudo, dos 6 indivíduos do grupo experimental que exibiram melhora psicológica pg. 162
- Tabela 35 – Parâmetros clínicos periodontais no início e no final do estudo, dos 6 indivíduos do grupo experimental que exibiram melhora psicológica..... pg. 162

Resumo

Resumo

Considerando a condição multi-fatorial da etiologia da doença periodontal, em particular a influência do estresse, evidente na literatura, esta pesquisa teve como propósito avaliar 2 grupos de indivíduos com doença periodontal, sendo que um grupo foi submetido à psicoterapia (grupo experimental – N=13) por 3 meses, enquanto o outro grupo serviu como controle(N=13); em ambos os grupos nenhuma intervenção periodontal foi realizada nesse período, seja curativa ou preventiva.

Os dados obtidos dos indivíduos de ambos os grupos, no “baseline” e no final do experimento (após 3 meses) incluíram: níveis das citocinas IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 e TGF- β (salivares), parâmetros periodontais (profundidade de sondagem-PS, nível de inserção-NI, recessão gengival, índice de placa-IP, índice gengival-IG) e o número de dentes perdidos (NDP). Também o nível de cortisol (NC) e análise psicológica do grau de estresse dos indivíduos que compuseram a amostra, foram importados de GREGHI-2009, para análise conjunta com os demais parâmetros. Os pacientes foram triados seguindo vários critérios de exclusão e inclusão.

Na análise dos parâmetros periodontais verificou-se que no grupo experimental houve uma melhora significativa do IP e do IG, e no grupo controle ocorreu uma piora significativa do IP. A análise laboratorial mostrou que o NC diminuiu de forma significativa no grupo experimental e no grupo controle houve um aumento significativo do nível de IL-6. Cabe destacar que, embora as diferenças entre os níveis iniciais e finais das citocinas analisadas, não tenham sido estatisticamente significantes, no grupo experimental houve uma tendência do aumento das citocinas anti-inflamatórias e diminuição das citocinas pró-inflamatórias.

Como conclusão final admitiu-se que o estresse pode repercutir negativamente no controle de placa, que o NC elevado pode aumentar os riscos de comprometimento periodontal, que a psicoterapia pode interferir de forma positiva em alguns parâmetros clínicos e laboratoriais, propiciando melhora clínica, e que o estresse como fator de risco à doença periodontal, não pode ser negligenciado.

Palavras chave: estresse, citocinas, etiologia da doença periodontal, fatores de risco à doença periodontal, inflamação.

Sumário

SUMÁRIO

I- Introdução	pg. 37
II- Justificativa	pg. 43
III- Revisão da literatura	
III.1- Etiologia da doença periodontal	pg. 49
III.2 - Inter-relação estresse-doença periodontal	pg. 62
III.3- Citocinas no estresse e na doença periodontal	pg. 83
IV- Proposição	pg. 113
V- Material e métodos	
V.1- Seleção da amostra	pg. 119
V.2- Exame dos pacientes	pg. 120
V.3- Intervenção periodontal no período experimental	pg. 124
V.4- Dosagem de citocinas na saliva	pg. 124
V.5- Testes estatísticos	pg. 126
VI- Resultados	
VI.1- Análise estatística considerando toda a amostra	pg. 129
VI.2- Análise estatística considerando de forma separado o grupo controle e o grupo experimental	pg. 141
VI.3- Análise estatística dos 6 pacientes do grupo experimental que obtiveram melhora sob o ponto de vista psicoterápico	pg. 155
VII- Discussão	
VII.1- da metodologia	pg. 165
VII.2- dos resultados	pg. 169
VIII- Conclusão	pg. 191
IX- Abstract	pg. 195
X- Referências bibliográficas	pg. 199
XI- Anexos	pg. 209

Introdução

I - Introdução

Os conceitos sobre a etiopatogenia da doença periodontal sofreram grandes transformações ao longo do tempo.

Pode-se afirmar que em uma época mais distante, empírica ou muito pouco científica, associou-se o cálculo como causa da doença periodontal, por uma relação simples e direta da destruição periodontal em sua presença.

Posteriormente, no final dos anos de 1880 até os anos de 1960 admitiu-se que a presença das bactérias de forma geral e exclusiva, era a causa da gengivite e da periodontite, pela ação direta de seus produtos (KORNMAN em 2008).

Entretanto durante os anos de 1970 e início dos anos de 1980 bactérias Gram negativas anaeróbicas ou microaerófilas foram implicadas como causadoras da periodontite e o papel da resposta imunoinflamatória protetora e destrutiva foram descritos na saúde e na doença (KORNMAN em 2008).

Ao longo dos anos de 1980 as pesquisas permitiram uma crítica aos conceitos de patogenia, pois a maioria dos modelos admitia que o processo de iniciação da doença ocorria por bactéria específica, ativado pela resposta do hospedeiro que era protetora ou destrutiva (KORNMAN em 2008).

Entre os anos 1985 e 1995 houve aumento do reconhecimento dos conceitos apresentados descrevendo uma relação entre agressão bacteriana e resposta imunológica, mas variações consideráveis eram observadas na resposta do hospedeiro e na expressão clínica da doença e apesar da forte correlação do acúmulo de placa com o desenvolvimento de gengivite, essa associação era menos clara ao se comparar diferentes pacientes e entre sítios distintos de um mesmo paciente (KORNMAN em 2008). Também exposição à placa por longos períodos que poderia levar à periodontite, estudos em animais e em humanos não confirmaram, sendo que as mais notáveis publicações foram de estudos longitudinais em plantadores de chá no Sri Lanka, nos quais apesar de pobre higiene e gengivite generalizada, 3 grupos de indivíduos foram identificados nessa população, sendo que em um houve mínima ou nenhuma periodontite.

Adicionando uma maior complexidade aos conceitos anteriores, admitiu-se um aumento significativo da importância das variações genéticas na determinação do desenvolvimento e severidade da periodontite (PAGE et al em 1997, A.A.P. em 1999, NUNN em 2003, KORNMAN em 2008).

Passou-se a reconhecer vários fatores contribuindo para a doença periodontal e que a condição clínica não era simplesmente dada pela agressão microbiana traduzida por uma resposta padrão do hospedeiro. Embora a agressão bacteriana seja o fator iniciador primário, outros fatores (fatores de risco), mesmo que não causem a doença, modificam a expressão da doença (PAGE et al em 1997, SALVI et al em 1997, NUNN em 2003, KORNMAN em 2008)). Incorretamente antes dos anos 1980 praticamente não se admitia que esses fatores tivessem algum envolvimento com a patogênese da doença periodontal.

À partir de 1997 muitos conceitos evoluíram sobre a patogenia da doença periodontal (PAGE et al em 1997, A.A.P. em 1999, NUNN em 2003):

- 1º - demonstrou-se que os patógenos periodontais são encontrados organizados em complexos ecológicos e uma mudança ecológica pode conduzir a situação crítica no sítio periodontal;
- 2º - confirmou-se que um grupo de fatores modificadores contribui fortemente para diferenças na suscetibilidade à periodontite;
- 3º - descreveu-se a associação da periodontite com outras doenças, expondo associação bacteriana, mecanismos inflamatórios comuns e/ou fatores modificadores comuns;
- 4º - houve um grande aumento no conhecimento sobre mecanismos específicos bacterianos e imunoinflamatórios na periodontite.

Esses aspectos modificadores que contribuem na ocorrência e severidade da periodontite podem ser fatores intrínsecos ou extrínsecos ao indivíduo. Dentre eles podemos citar: aspectos genéticos, doenças sistêmicas, idade, aspectos nutricionais, tabagismo, drogas, estresse, placa bacteriana, etc..

Embora esses aspectos modificadores da resposta do hospedeiro só tenham realmente tomado importância à partir dos anos de 1980, muitos anos antes, autores como BOYLE, RADUSCH, ORBAN, dentre outros (in DAVIS e JENKINS- 1962), já especulavam o papel de fatores sistêmicos na doença periodontal, entretanto dois fatores (tabagismo e estresse) já tinham sua importância muito evidenciada lá no passado, mas ligado quase apenas à uma condição específica de um tipo de periodontite, a G.U.N.A. (Gengivite ulcero- necrosante aguda) (PAGE et al em 1997).

Desde os anos de 1950 já se relatava uma associação GUNA-bactérias-tabagismo/estresse que caracterizava a etiologia da GUNA como multifatorial; entretanto essa conotação de multifatorialidade não era estendida para a periodontite de forma geral, pois admitia-se na época a bactéria como fator causal exclusivo.

Atualmente está muito claro a importância desses múltiplos fatores na etiopatogenia da doença periodontal, embora não se compreenda ainda plenamente essas interações para muitos fatores.

Dentre esses fatores, um que tem despertado muita atenção dos periodontistas é o estresse, devido à repercussão em aspectos tanto intrínsecos (sistema endócrino, imunológico) quanto extrínsecos do indivíduo (modificadores de hábitos como higiene, nutrição, tabagismo, etc.).

Dados de várias pesquisas apontam que no estresse ocorre uma depressão na quimiotaxia e fagocitose neutrofílica, assim como a redução na proliferação de linfócitos, mudanças no padrão de citocinas dentre outras alterações (SHAPIRA et al em 1999 e 2000, MAES et al em 1998, BREIVIK et al em 2000, MENGEL, BACHER e FLORES-de-JACOBY em 2002, KIM e MAES em 2003, JOHANNSEN et al em 2007, dentre outros).

Estresse, angústia, conflitos, depressão, ansiedade, ou seja, fatores psicossociais de forma geral, podem estar associados com aumento da severidade na destruição dos tecidos periodontais (CROUCHER et al em 1997, AXTELIUS et al em 1998, SHAPIRA et al em 2000, ALEKSEJUNIENE et al em 2002, HUGOSON, LJUNGQUIST e BREIVIK em 2002, TENG et al em 2003, ISHISAKA et al em 2007, dentre outros).

Justificativa

II- Justificativa

Baseado nas múltiplas evidências na literatura, da relação do estresse psicológico com patologias, especificamente a doença periodontal, atuando na potencialização dos fatores de risco e desregulando mediadores pró e anti-inflamatórios (citocinas), cabe-nos investigar se essas relações podem ser modificadas benéficamente com a atuação de psicoterapia, uma vez que não encontramos nenhum trabalho publicado na literatura avaliando esse tipo de intervenção.

Revisão de Literatura

III.1- Etiologia da doença periodontal

Nesse sub-capítulo foram incluídos apenas alguns artigos com o objetivo de ilustrar a condição complexa e multi-fatorial da doença periodontal.

Em 1997, PAGE, R. et al publicaram artigo no qual apresentam conceitos básicos e fatos que constituíam os conhecimentos correntes da patogênese da periodontite baseado nas publicações da literatura.

Sobre a condição microbiológica na doença periodontal, concluíram:

- um limitado número de bactérias específicas são essenciais para iniciar e alimentar a progressão da doença, mas insuficiente para explicar a prevalência e a severidade da doença;
- fatores do hospedeiro, incluindo hereditariedade e fatores como tabagismo são determinantes importantes na ocorrência e severidade da doença;
- a placa microbiana sub-gengival comporta-se como um biofilme;
- bactérias em biofilmes são de difícil erradicação por meio de antimicrobianos e estão protegidas dos mecanismos de defesa do hospedeiro;
- biofilmes são efetivamente tratados com desorganização e remoção física;
- na periodontite uma grande carga de bactérias Gram negativas está localizada adjacente aos tecidos inflamados;
- muitos patógenos periodontais reconhecidos tem múltiplos tipos clonais geneticamente distintos (alguns tipos clonais são provavelmente mais virulentos que outros);
- a transmissão bacteriana é comum intra-familiar;
- o reconhecimento da transmissão bacteriana e o aumento da capacidade da identificação de indivíduos de mais alto risco para doença severa, tem maior implicação na prevenção e tratamento das doenças periodontais;

Sobre as interações “hospedeiro-bactéria” na doença periodontal, concluiu-se:

- a resposta celular e molecular para neutralizar a carga bacteriana é interativa e envolve constante ajuste e feedback regulador;
- o epitélio tem um papel ativo na captação e sinalização, envolvendo o recrutamento de leucócitos específicos e a permeabilidade vascular;
- a ativação do epitélio juncional pela bactéria inicia resposta endotelial que envolve a migração neutrofílica primária pelo sulco;

- populações de leucócitos específicos no tecido são firmemente reguladas por citocinas e quimiocinas em resposta aos produtos bacterianos que entrando nos tecidos as ativam seletivamente;
- neutrófilos não “habitam” nos tecidos, mas constituem a maioria dos leucócitos no sulco, enquanto que macrófagos, linfócitos e plasmócitos são a maioria das células nos tecidos;
- se a carga bacteriana não é controlada precocemente, células teciduais residentes, tais como fibroblastos, tornam-se ativadas pelos produtos bacterianos e citocinas participam ativamente na destruição dos tecidos.

Sobre a participação de citocinas e prostaglandinas na patogênese da periodontite, concluíram:

- as citocinas, quimiocinas e prostaglandinas parecem compreender os maiores reguladores das respostas imunoinflamatórias que caracterizam a periodontite;
- diferentes padrões de citocinas tem sido observados nos tecidos de sítios com periodontite, sugerindo que padrões reguladores específicos podem estar envolvidos em lesões estáveis e ativas;
- as lesões ativas não parecem ter padrões de citocinas caracterizadas como padrão Th1 ou Th2;
- citocinas pró-inflamatórias IL-1 β e TNF- α tem sido fortemente associadas com periodontite;
- prostaglandina E₂ é um mediador primário na destruição tecidual na periodontite;
- níveis de PGE₂ estão elevados em indivíduos com alto risco para periodontite severa;
- níveis de PGE₂ são determinados pela prostaglandina endoperoxidase 2 (ciclooxigenase 2), enzima que é localmente regulada por LPS e várias citocinas, incluindo de maneira mais contundente IL-1 β e TNF- α .

Os mecanismos da destruição na periodontite foram assim resumidos pelos autores:

- a periodontite envolve a destruição de osso e tecido conjuntivo, incluindo colágeno, proteoglicanas e outros componentes da matriz extra-celular;
- a destruição do tecido não é uni-direcional, ou seja, o processo é interativo e é constantemente ajustado pelas interações hospedeiro-bactéria;
- a destruição da matriz extra-celular é determinada pelo equilíbrio entre metaloproteinases (MMP) e seus inibidores;

- o equilíbrio entre MMP e inibidores é regulada localmente pela exposição a IL-1 α , IL-1 β , IL-10, TGF- β e LPS.
- a destruição óssea alveolar é um resultado de desarmonia de um processo de reabsorção e formação óssea;
- PGE₂, IL-1 β e em menor grau TNF- α , parecem mediar a reabsorção óssea na periodontite. IL-6 pode também estar envolvida;
- fatores circulantes, incluindo hormônios esteroidais, hormônio da paratireóide, calcitonina e vitamina D₃, regulam o processo de remodelação óssea.

Sobre a relação fatores de risco ambientais e adquiridos/ Periodontite, concluiu-se:

- a Periodontite parece comportar-se como uma doença multi-fatorial, na qual fatores múltiplos ambientais e genéticos interagem produzindo a doença e modificando sua expressão clínica. O primeiro exemplo dessas interações são os níveis de IgG₂ em periodontites precoces, que parecem ser influenciados por fatores genéticos e tabagismo;
- Periodontites estão fortemente associadas com as principais doenças sistêmicas, incluindo doenças cardio-vasculares, diabetes e bebês prematuros e de baixo peso;
- o Diabetes é um fator de risco bem documentado;
- muitos diabéticos manifestam um fenótipo para monócito com baixa função, que é caracterizado pela expressão de altos níveis de PGE₂, IL-1 β e TNF- α em resposta à carga de LPS;
- o Diabetes é conhecido por alterar o metabolismo de colágeno e da membrana basal de pequenos vasos;
- o tabagismo é um fator de risco bem documentado;
- o tabagismo inibe a função neutrofílica, suprime a resposta de anticorpos IgG₂, eleva a liberação de IL-1 β por monócitos e pode afetar diretamente a função de osteoblastos;
- estresse psicossocial pode ser associado com um aumento de severidade da periodontite;
- infecção por HIV é um fator de risco para forma ulcerativa de periodontite.

Particularmente sobre o estresse psicossocial, a suspeita de sua participação na suscetibilidade à periodontite e na resposta a terapia, vem de longa data. Os dados apóiam a associação entre estresse e gengivite ulcerativa necrosante aguda (GUNA), e os pacientes estressados com GUNA manifestam quimiotaxia e fagocitose neutrofílica

deprimida, assim como a redução da proliferação de linfócitos, em resposta a estimulação de mitógeno não específico.

Estresse, angústia e tipo de comportamento a esses eventos podem ser associados com aumento da severidade da destruição periodontal. Interações celulares e moleculares entre sistemas neuroendócrino e imune tem sido bem documentado.

Corticosteróides inibem muitas células inflamatórias, incluindo macrófagos, neutrófilos, eosinófilos e mastócitos; estes são mediados pela supressão de citocinas como IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, TNF- α , IFN- γ e fator estimulador de colônias granulócito-macrófago e pela inibição do metabolismo do ácido aracdônico e produção de prostaglandinas e leucotrienos.

Finalmente sobre os fatores de risco genéticos na patogênese da periodontite, os autores afirmaram:

- a função dos neutrófilos na proteção é crítica e desempenha papel importante na periodontite e se defeitos genéticos alterarem sua função, deve ser esperado alteração na doença;
- sub-classe do IgG₂ é importante, pois sabe-se que os níveis de IgG₂ são regulados pelo loco G2M23 que tem sido associado com periodontite;
- polimorfismo nos genes para receptor Fc γ II nos neutrófilos tem sido associado com periodontite;
- a combinação de 2 polimorfismos nos genes de IL-1 tem sido associado com mais severa periodontite.

Ainda no ano de 1997, SALVI et al, também revisaram a literatura analisando a influência de potenciais fatores de risco na patogênese da periodontite.

Dentre esses fatores, os autores destacam o Diabetes Mellitus, pois as investigações baseadas em epidemiologia tem mostrado que o risco para periodontite em diabéticos é maior que nos não diabéticos. Estudos indicam que a progressão da periodontite, gengivite e perda de inserção são maiores nos diabéticos que nos não diabéticos, assim como nos diabéticos não controlados em relação àqueles bem controlados.

Outro fator abordado pelos autores foi o tabagismo, que tem sido extensivamente abordado na literatura. Alguns trabalhos consideram que o tabagismo aumenta mais de 5 vezes o risco de desenvolver periodontite severa quando comparado aos não fumantes, e que o risco é proporcional à dose. Um larga variedade de efeitos

biológicos tem sido descritos associados ao tabagismo no desenvolvimento da periodontite.

Também abordou-se nesse artigo o estresse psicossocial (estresse físico e mental), e muitos trabalhos consideram importante o papel desse fator na extensão e severidade das doenças periodontais. Esses estudos hipotetizam que fatores psico-emocionais pode deprimir a resposta imune perante patógenos periodontais. Os primeiros relatos ligando o estresse às condições periodontais, foram relativos à G.U.N.A. (“boca de trincheira”) em soldados na frente de guerra na 1ª guerra mundial, e tem sido sugerido que se a resistência do indivíduo for diminuída por inabilidade pessoal em resposta aos eventos estressantes, doença periodontal pode ser manifestada. Embora o papel do estresse agravando muitas condições médicas, como doença cardíaca, esteja bem documentada, sua significância biológica nas doenças periodontais não é ainda completamente compreendida.

Os autores ainda abordaram nesse artigo fatores como: flora microbiana, infecção por HIV, alergias, osteoporose, anemia e secundariamente fatores como idade, medicação, nutrição, higiene bucal, condição sócio-econômica e educacional.

Em 1.999, a Academia Americana de Periodontia publicou artigo em que revisou a patogênese das doenças periodontais. Nesse artigo, a gengivite marginal crônica foi caracterizada clinicamente por vermelhidão gengival, edema, sangramento, mudança no contorno gengival, perda da adaptação tecidual aos dentes e aumento do fluido gengival. O desenvolvimento da gengivite requer a presença da bactéria na placa, que induz mudanças patológicas nos tecidos de forma direta e indireta.

As observações histológicas tem sub-dividido a gengivite em 3 estágios. A lesão inicial aparece como uma resposta inflamatória aguda, com característica infiltração neutrofílica; mudanças vasculares, de células epiteliais e destruição colágena estão presentes. Essas mudanças iniciais são devidas à quimioatração dos neutrófilos pelos constituintes das bactérias e pelo efeito de vasodilatação promovidos por produtos bacterianos, assim como ativação dos sistemas do hospedeiro, tais como sistemas complemento, cininas e do ácido aracdônico.

A lesão precoce é caracterizada pelo infiltrado de células linfóides, dominado por linfócitos T, com extensão da perda colágena, enquanto a lesão estabelecida é dominada por linfócitos B e plasmócitos.

As características do infiltrado inflamatório crônico das lesões precoce e estabelecida, assim como a proliferação do epitélio juncional e destruição de colágeno, são consistentes com a ativação de fagócitos mononucleares e fibroblastos por produtos bacterianos, com o recrutamento e ativação do sistema imune no local e citocinas. A progressão da lesão de inflamação aguda, depois com células T e então predominância de células B é provavelmente orquestrada por uma progressão de citocinas, que são responsáveis pelo recrutamento, diferenciação e crescimentos de tipos celulares característicos, com progressiva cronicidade da lesão.

Por outro lado a periodontite é clinicamente diferenciada da gengivite pela perda de tecido conjuntivo de inserção ao dente na presença da inflamação gengival; ainda ocorre a perda de ligamento periodontal com desinserção do cemento, assim como a reabsorção do osso alveolar. Juntamente com a perda de inserção há a migração do epitélio juncional ao longo da superfície radicular e da reabsorção óssea. Histopatologicamente a lesão periodontal é em muitos pontos similar à lesão estabelecida do processo da gengivite, com a predominância de plasmócitos, perda de elementos do tecido conjuntivo, mas em adição, há reabsorção óssea. A despeito dessa similaridade, faltam evidências que indicariam que a periodontite é uma consequência inevitável da gengivite, e os mecanismos patogênicos e os fatores que levam à progressão da gengivite para periodontite não são claros.

Modelos clínicos da atividade da periodontite incluem situações de progressão contínua, na qual a perda de inserção ocorre numa razão lenta por longo período de tempo, e situações nas quais a perda de inserção ocorre de forma relativamente rápida num período de tempo curto. Dados clínicos sugerem que esses mecanismos podem ocorrer em diferentes pacientes, ou em diferentes sítios, ou em diferentes tempos no mesmo indivíduo, implicando que a patogênese da perda de inserção periodontal pode diferir entre pacientes, sítios e tempos.

É amplamente aceito que a iniciação e a progressão da periodontite são dependentes da presença de microorganismos capazes de causar a doença, representados por uma pequena porcentagem das espécies isoladas de bolsas periodontais, que apresentam fatores de virulência; esses fatores (constituintes e/ou metabólitos) ou causam a perda da homeostasia ou dos mecanismos protetores. Então a patogênese da periodontite é em parte dependente da virulência, como da presença e da concentração bacteriana.

Três características dos microorganismos periodontais tem sido identificados pela capacidade de agir como patógeno: capacidade de colonizar, capacidade de evadir dos mecanismos de defesa do hospedeiro e capacidade de produzir substâncias que podem iniciar diretamente a destruição (Ex: *A.a.*, *P.gingivalis*, *C. rectus*, etc.).

É provável que os efeitos patológicos diretos da bactéria e seus produtos no periodonto sejam significantes nos estágios iniciais da doença (proteases, collagenase, fibrolisina, fosfolipase, H₂S, NH₃, LPS). Uma vez que a maioria dos elementos de proteção do periodonto foram subjugados pelos mecanismos de virulência bacterianos, vários processos destrutivos mediados pelo hospedeiro são iniciados. Leucócitos polimorfonucleares, que normalmente provêm proteção, podem contribuir com a patologia, pela capacidade de degradar tecidos do hospedeiro circunjacente.

Há evidências que essa destruição é estabelecida na periodontite, como um resultado da mobilização de tecidos do hospedeiro via ativação de monócitos, linfócitos, fibroblastos e outras células do hospedeiro. O comprometimento desses elementos celulares por fatores bacterianos, em particular LPS, estimula a produção de citocinas e metabólitos do ácido aracdônico (PGE₂); tais mediadores promovem a liberação de enzimas derivadas dos tecidos, metaloproteinases que são destrutivas à matriz extracelular e ao tecido ósseo.

As citocinas são moléculas que liberadas por células do hospedeiro no meio, promovem sinais moleculares para outras células afetando suas funções; muitas citocinas são produzidas pelas células na lesão periodontal, e as mais consistentemente associadas com periodontites são:

- Interleucina 1 (IL-1) – é uma citocina pró-inflamatória multi-funcional, capaz de penetrar nas células inflamatórias no local da infecção, capaz de promover reabsorção óssea, estimular liberação de PGE₂ de monócitos e fibroblastos, estimular a liberação de metaloproteinases e participar de muitos aspectos da resposta imune. Os níveis de IL-1 em geral são elevados nos tecidos e no fluido gengival de locais doentes em comparação com sítios saudáveis; a forma predominante nos tecidos periodontais é IL-1 α , que é produzida primariamente por macrófagos.
- Interleucina 6 (IL-6) – é uma citocina que estimula a proliferação de plasmócitos e porisso a produção de anticorpos, e é produzida por linfócitos, monócitos e fibroblastos; os níveis de IL-6 mostram-se elevados nos tecidos inflamados, sendo mais alto na periodontite que na gengivite. A IL-6 estimula a formação de osteoclastos e a reabsorção óssea.

- Interleucina 8 (IL-8) – é um quimioatrativo normalmente produzido por monócitos em resposta a LPS, IL-1 ou TNF- α . Está presente em altos níveis nas lesões de periodontite e no fluido gengival desses sítios, normalmente associada com epitélio juncional e macrófagos. É quimioatrativo para neutrófilos e parece estimular seletivamente a atividade da metaloproteinase (MMP) dessas células, então em parte destruir colágeno na área da lesão.

- Fator de Necrose Tumoral α (TNF- α) – participa de muitas atividades biológicas com a IL-1 (propriedades pró-inflamatórias, estimulação de MMP, produção de PGE₂ e reabsorção óssea) e sua secreção por monócitos e fibroblastos é estimulada por LPS bacterianos.

- Prostaglandina E₂ (PGE₂) - é produzida por monócitos e fibroblastos, induz reabsorção óssea e secreção de MMP. Está associada a tecidos e fluido gengival com inflamação periodontal, periodontite progressiva e pacientes de alto risco a periodontite (periodontite precoce, diabetes, refratária).

Outro aspecto envolvido na etiopatogenia da periodontite está ligado aos fatores genéticos.

Como em qualquer doença infecciosa, a suscetibilidade do hospedeiro tem um papel determinante para que na presença de um agente infeccioso ocorra a doença ou que na condição de doença pré-existente, esta progrida. Polimorfismo no gene que codifica a IL-1, está associado com maior suscetibilidade e severidade à periodontite; outros tipos de riscos genéticos são relatados ligados à disfunção neutrofílica, pobre atividade funcional de monócitos, ao HLA (complexo de histocompatibilidade), relacionados a síndromes (Chediaki-Higashi, Papillo-Lefevre, Ehler-Danlos, etc.) dentre outros.

O tabagismo tem sido demonstrado fator de risco à doença periodontal, aumentando a severidade da doença, sendo dose-dependente. Os mecanismos deletérios associados a patologia periodontal incluem alterações da vascularização dos tecidos periodontais, alterações da microbiota, efetores inibidores nos níveis de imunoglobulina e respostas dos anticorpos à placa bacteriana.

Muitas condições sistêmicas tem sido associadas à predisposição à perda de inserção periodontal e tem como atributo comum defeito na função neutrofílica (agranulocitose, neutropenia cíclica, Diabetes Mellitus, síndrome de Papillon Lefreve, etc.).

Em 2003, NUNN, M.E. publicou um artigo em que fez um resumo dos fatores de risco envolvidos na etiologia da periodontite. Assim o autor define a periodontite como uma doença multi-fatorial tendo a placa dental como fator iniciador, mas sua manifestação e progressão é influenciada por uma ampla variedade de determinantes e fatores, incluindo características do indivíduo, fatores sociais e comportamentais, fatores sistêmicos, fatores genéticos, fatores dentais, composição microbológica da placa e outros fatores de risco que começam a ser abordados.

Dentre os aspectos envolvidos no risco à periodontite as características individuais como idade, raça e gênero são considerados. Embora a idade seja mais correlacionada a uma condição cumulativa da perda periodontal ao longo do tempo, deficiências intrínsecas podem contribuir para suscetibilidade à doença periodontal.

O papel racial como fator de risco à periodontite é mais complexo: um estudo em comunidade de idosos de brancos e negros (65 anos ou mais), os negros apresentaram 3 vezes mais destruição periodontal avançada que os brancos; ainda, *P. intermédia* foi considerada fator de risco para os negros, mas não para os brancos. Entretanto nesse estudo os negros tinham mais indicadores relacionados à condição sócio-econômica que os brancos, e quando as diferenças sócio-econômicas foram ajustadas, as diferenças das condições periodontais freqüentemente desapareceram; por outro lado, as diferenças raciais podem contribuir na distribuição de certos fatores de risco genéticos (polimorfismos) e esse fato pode influenciar a prevalência e a severidade da doença.

Associação do gênero com a doença periodontal também tem sido discutida; existem estudos que mostram maior perda de inserção e óssea em homens, após um ajuste para condições socio-econômicas, higiene e idade. Na mulher o estrógeno apresenta uma função protetora e estudos mostram que a suplementação com estrógeno reduz inflamação gengival e perda de inserção em mulheres com osteopenia/osteoporose em menopausa precoce.

Dentre os fatores sociais e comportamentais o autor destaca: tabagismo, a condição sócio-econômica, aspectos nutricionais, fatores psicossociais e alcoolismo.

O tabagismo tem sido reconhecido como fator de risco à periodontite há muito tempo. A relação com a perda de dentes pela periodontite parece ser dose-dependente, induzindo maior perda de inserção e óssea nos fumantes mais graves. O tabagismo é

provavelmente o fator de risco isolado, modificável, mais significativo para a doença periodontal.

Quanto ao aspecto nutricional, existem controvérsias: alguns estudos afirmam que deficiências nutricionais, em países em desenvolvimento, contribuem para a periodontite avançada, enquanto em outros não demonstram essa correlação.

Os fatores psicossociais também tem sido propostos como fatores de risco à doença periodontal. Alguns estudos mostram estresse ligado a problemas financeiros associado de forma significativa com maior perda de inserção clínica e maior perda óssea, enquanto outros mostram o impacto de eventos negativos ao longo da vida do indivíduo com repercussão periodontal.

Também o consumo excessivo de álcool tem sido associado à perda de inserção e sangramento gengival aumentado.

O autor destaca ainda, como risco os fatores sistêmicos. Um dos mais fortes fatores de risco para a doença periodontal é o Diabetes Mellitus, e a severidade e a extensão da periodontite está diretamente relacionado ao controle da glicemia. Pobre controle glicêmico está associado a significativa maior perda óssea e perda de inserção.

Certas condições sistêmicas requerem o uso de drogas que podem criar um risco à periodontite pelo acúmulo de placa como resultado do crescimento gengival (bloqueadores dos canais de cálcio, fenitoína, ciclosporina).

Muitas outras condições sistêmicas tem sido associadas com a doença periodontal.

Os fatores genéticos tem sido muito pesquisados atualmente; genótipos específicos tem sido identificados e associados à doença periodontal. Polimorfismos de IL-1, IL-1 β e TNF- α tem sido identificados como risco à destruição periodontal. Polimorfismos de IgG receptores Fc tem sido associados a periodontite crônica.

Muitos fatores de risco estão ligados à anatomia dental; muitos estudos tem mostrado associação entre projeções de esmalte envolvendo furca de molares, assim como pérolas de esmalte.

A posição do dente também pode ser um fator de risco; mal-alinhamento, apinhamento, inclinação, tem sido implicados com perda de suporte periodontal e dentes vestibularizados ou lingualizados tem sido correlacionados com recessão gengival. Também a posição dos dentes pode influenciar na oclusão, e uma má oclusão pode constituir um fator de risco modificável, para a doença periodontal.

A proximidade radicular, também segundo o autor, tem sido admitida como fator de risco para a periodontite devido à diminuição de tecido conjuntivo e ósseo nessas áreas, e a inflamação gengival e destruição periodontal podem ser potencializadas; entretanto não há evidências científicas que a proximidade radicular seja um fator de risco para a iniciação da periodontite.

Contatos interdentais “abertos” (ausência de contatos proximais) também tem sido associados com aumento da profundidade de sondagem e perda de inserção clínica.

Anormalidades de formação radicular tal como sulco palato-gengival em incisivos superiores também tem sido associados com perda clínica de inserção e óssea, por ser um reservatório de microorganismos sub-gengival e impedir a remoção da placa.

As restaurações dentais podem também ser um risco ao colapso periodontal como resultado de discrepâncias marginais.

O autor comenta ainda que até mesmo o envolvimento pulpar pode contribuir para a destruição periodontal, particularmente quando há periodontite concomitante, podem criar lesões endo-periodontais.

Outros aspectos dentais abordados são as fraturas dentais, que dependendo da posição e/ou extensão pode ter um papel importante no estabelecimento de um risco periodontal, e as reabsorções radiculares externas, quando comunicam com a cavidade bucal, promovendo um acesso às bactérias que podem destruir a inserção óssea alveolar.

Quanto ao fator de risco microbiológico, o autor destaca que a placa dental tem sido reconhecida como o fator iniciador da periodontite, e que 3 patógenos tem sido repetidamente identificados como agentes etiológicos na periodontite crônica: *A.a*, *B. forsythus* e *P. gingivalis*.

Ainda, segundo o autor, há evidências de que novos fatores de risco estejam emergindo, pois começam a aparecer especulações de associação de doenças cardiovasculares com a doença periodontal; a proteína C reativa que tem sido implicada nas doenças cardio-vasculares também tem sido encontrada em níveis elevados em indivíduos com periodontite crônica.

Também os níveis de lipídios no plasma (colesterol, triglicérides, HDL, LDL) e lipo-proteínas também tem se mostrado elevados na periodontite e estudos clínicos sugerem a relação entre hiperlipidemia e periodontite.

Em 2.008, KORNMAN, K.S., publicou um artigo no qual relatou as evoluções nos conceitos da patogênese periodontal.

Segundo o autor, a era moderna sobre patogênese, prevenção e tratamento das doenças periodontais começou na metade dos anos 60 (1960), com estudos em humanos e em animais, demonstrando o papel crítico da bactéria na iniciação da gengivite e da periodontite. Isso levou a um conceito claro da patogênese, ou seja, que a bactéria causava doença periodontal.

Esse modelo implicou os depósitos de placa bacteriana como fator direto primário no desenvolvimento da periodontite, e no abandono dos conceitos que envolviam fatores não bacterianos, tais como trauma oclusal, condições sistêmicas e dieta. Essa crença no papel crítico da bactéria mudou drasticamente a prevenção e o tratamento da periodontite; muitos aspectos foram ocultados dentro desse conceito simples, e que a massa de placa bacteriana era o fator causador e que os produtos bacterianos, como colagenase, destruiriam diretamente os tecidos.

Pesquisas e discussões científicas baseadas nesse conceito simples da bactéria como causadora da doença, levou ao avanço nos conhecimentos durante a década de 70 e no início dos anos 80. Bactérias micro-aerófilas, Gram negativas e anaeróbicas foram implicadas como causadoras da periodontite e o papel protetor e destruidor das respostas imuno-inflamatórias foram descritos na saúde e na doença. O papel crítico dos PMN contribuindo com o dano periodontal em humanos foi mais amplamente reconhecido, assim como os mecanismos de ação dos PMN; e posteriormente se compreendeu melhor que muitos padrões clínicos de doenças, ou fenótipos, tinham características da bactéria e de respostas do hospedeiro. Finalmente nesse período a iniciação e a progressão da periodontite foi descrita em termos de características histopatológicas distintas que deram novas perspectivas dentro do processo de patogênese.

As pesquisas na metade dos anos 80 levaram a um refinamento crítico nos conceitos da patogênese, muitos dos quais não foram muito aceitos por um lado da comunidade científica. Na maioria dos modelos do final dos anos 80, uma bactéria específica iniciava o processo da doença pela ativação das respostas do hospedeiro, que era protetora ou destruidora. A destruição de tecido conjuntivo e ósseo resultava primariamente de mecanismos teciduais ativados, tais como MMP, IL-1 e prostaglandinas. Talvez o mais importante aspecto do modelo dos anos 80, foi novamente a distinção entre o papel bacteriano e os mecanismos imuno-inflamatórios.

De 1985 à 1995 houve um aumento do reconhecimento que os conceitos apresentados nos modelos que descreviam uma simples relação entre carga microbiana

e respostas imunológicas mantiveram-se verdadeiros quando o “meio termo” era considerado, mas variações significantes eram observadas nas respostas do hospedeiro e na expressão clínica da doença. Apesar de forte e reprodutível associação entre acúmulo de placa e desenvolvimento de gengivite, essas associações eram menos claras em análises de paciente a paciente, e em um mesmo paciente, de um sítio para outro.

Em estudo clássico em cães, doença periodontal não ocorreu em alguns animais apesar do acúmulo de placa, de gengivite e extenso acúmulo de cálculo. Em humanos talvez a mais notável pesquisa, ocorreu com plantadores de chá no Sri Lanka: não se mostrou que a falta de limpeza dos dentes regularmente, resultava em extensa gengivite e periodontite precoce e severa, e ainda que havia 3 subtipos populacionais relativamente ao desenvolvimento de periodontite em resposta ao acúmulo bacteriano, incluindo um grupo com pobre higiene oral e gengivite, mas com desenvolvimento mínimo de periodontite (LOE, H. et al em 1986).

Adicionando mais complexidade ao modelo conceitual anterior, houve nesse período, um crescimento da valorização da importância das variações genéticas, na determinação do desenvolvimento e severidade da periodontite (30 – 60% da variabilidade da severidade clínica da periodontite).

Com novos conhecimentos de que vários fatores contribuíam na doença periodontal, reconheceu-se que o fenótipo clínico não era uma simples carga microbiana traduzida por uma resposta padrão do hospedeiro. Dados muito fortes emergiam e mostravam que tabagismo, diabetes, eram determinantes na severidade da doença. Pesquisas clínicas e laboratoriais mostraram que esses fatores de risco influenciam mais a expressão da doença por alterar os mecanismos protetores e destrutivos do hospedeiro. Na doença periodontal, embora a carga microbiana seja o fator iniciador primário, muitos outros fatores parecem modificar a expressão da doença, mas eles não são por si, fatores causadores. É correto concluir que esses fatores não causam a doença, mas antes dos anos 80, afirmava-se incorretamente que esses fatores não estavam envolvidos na patogênese.

O modelo conceitual de periodontite foi revisado em 1997, e admitiu-se que muitos fatores de risco agiam modificando as respostas do hospedeiro levando a mudanças na expressão da doença. Nesse modelo os mecanismos imuno-inflamatórios são ativados pelos produtos bacterianos, e tal ativação induz a expressão de anticorpos, ativação de PMN no sentido de tentar controlar a carga bacteriana no sulco gengival.

Ainda citocinas e MMP ativadas na resposta do hospedeiro podem estimular danos ao tecido conjuntivo e ósseo e configurar a apresentação clínica da doença.

Avanços nos conhecimentos tem alterado os modelos de patogênese: primeiro, demonstrou-se que patógenos periodontais são encontrados em complexos ecológicos, e uma mudança ecológica pode levar ao surgimento de novos patógenos específicos; em segundo lugar, estudos confirmaram que um pequeno grupo de modificadores da doença, incluindo diabetes, genótipo e tabagismo contribuem fortemente para as diferenças individuais na suscetibilidade à periodontite. Em terceiro, muitos estudos descrevem associações entre periodontite e outras doenças, tal como doenças cardiovasculares, e potencialmente explica essa associação com causa bacteriana, mecanismos inflamatórios comuns e/ou fatores modificadores comuns. E por último, há um aumento dos conhecimentos sobre os mecanismos bacterianos específicos e mecanismos imuno-inflamatórios na periodontite.

III.2- Inter-relação estresse / doença periodontal

Há mais de meio século, SELYE -1951, 1952 (in DAVIS e JENKINS em 1962) introduziu a teoria do estresse como fator determinante na causa de doenças, e essa idéia foi apoiada por vários outros pesquisadores como GRAHAM, STERN, WENOCUR em 1960; HAWKINS, MONROE, SANDFUR em 1960; AX em 1960, dentre outros (in DAVIS e JENKINS em 1962). Essa teoria da ação de ACTH, STH, corticóides flogísticos e anti-flogísticos, adrenalina e noradrenalina sob condições de estresse tem encontrado suporte experimental.

Ainda num passado um pouco distante, DREYFUSS e FELDMAN em 1952, KERR em 1956 observaram declínio na quantidade de eosinófilos em indivíduos sob estresse mental; RATCLIFF em 1956, FEDI em 1958 e PERSON em 1959, em estudos animais distintos confirmaram o papel do estresse no desenvolvimento e progressão da doença periodontal e BERNIER em 1958 descreveu a interação entre estresse local e geral com o periodonto (in DAVIS e JENKINS em 1962).

Discutindo aspectos psicossomáticos na doença periodontal KANTERMAN em 1955 relatou: “A psique, quando submetida a conflitos emocionais por longos períodos

torna-se um importante fator na causa de uma cadeia de reações somáticas que resultam em mudanças patológicas. Tais mudanças afetam os sistemas neural, vascular e endócrino que desempenham um papel muito importante na manutenção da saúde dos tecidos bucais “ (in DAVIS e JENKINS em 1962).

À partir dos anos 1990 muitos trabalhos surgiram correlacionando aspectos psicossociais com alterações periodontais.

MONTEIRO da SILVA et al (1996) investigaram possíveis associações entre um número relevante de fatores psicossociais e periodontite do adulto e de progressão rápida. Eles incluíram no estudo 150 indivíduos divididos em 3 grupos: 50 com periodontite crônica do adulto, 50 com periodontite progressiva rápida e 50 indivíduos sem destruição periodontal significativa (grupo controle). Uma análise multivariada entre os indivíduos indicou que variáveis psicossociais combinadas estavam significativamente relacionadas ao diagnóstico periodontal, sendo que dois fatores psicossociais, a depressão e a solidão, foram significantes na distinção entre os grupos. O grupo com periodontite progressiva rápida apresentava significativamente mais depressão e solidão em comparação com o grupo com periodontite crônica do adulto e grupo controle. Os autores sugeriram novas pesquisas para esclarecer essas diferenças nos aspectos psicossociais entre os tipos de periodontites.

Em 1997 CROUCHER et al avaliaram se os eventos ao longo da vida estariam associados com periodontite do adulto. Cem pacientes foram incluídos no estudo, dos quais se colheu dados como: os eventos da vida, tabagismo, saúde bucal e aspectos sócio-demográficos. Os resultados da análise de regressão lógica simples mostrou que periodontite esteve associada com o impacto negativo dos eventos da vida, com o número de eventos negativos, com altos níveis de placa bacteriana, com o uso de tabaco e com desemprego. Essas associações permaneceram estatisticamente significantes após ajuste para saúde bucal e variáveis sócio-demográficas. A condição conjugal tornou-se estatisticamente significativa após ajuste para as outras variáveis. Concluiu-se que fatores psicossociais e um grande número de comportamentos de risco à saúde oral seriam importantes determinantes de periodontite.

AXTELIUS et al (1998) investigaram a perspectiva da interação do estresse na patogênese de periodontites resistentes à terapia, sendo que o objetivo foi obter indicações de um modelo estresse-comportamento-sistema imune que pudesse explicar a doença periodontal. Dois grupos de pacientes foram comparados: um que respondia bem ao tratamento e outro que respondia menos à terapia. Fatores psicológicos e somáticos foram registrados em entrevistas que foram confrontados com dados clínicos durante o tratamento. Uma análise de regressão multivariada foi realizada e os resultados indicaram que o grupo que não respondia ao tratamento tinha mais predisposição a tensões psicossociais e uma personalidade mais passiva e dependente, enquanto o grupo que respondia à terapia apresentava personalidade mais forte e possivelmente menos situações de estresse psicossocial no passado. Concluiu-se que havia evidência da possível contribuição de fatores do estresse, no contexto da resistência ao tratamento da doença periodontal.

Em outra pesquisa, AXTELIUS et al (1998) investigaram a presença de cortisol no fluido gengival, pois o cortisol é um mediador primário da resposta ao estresse, podendo ter efeitos imunossupressivos. Embora cortisol e outros esteróides estejam presentes na saliva, a ocorrência no fluido gengival não tem sido documentada. Amostras do fluido gengival foram colhidas (7 indivíduos) com discos de papel e analisadas por método RIA modificado. Dos pacientes registrou-se idade, tabagismo e profundidade de sondagem. Os resultados sugeriram que a concentração total de cortisol no fluido gengival pode ser estimada abaixo de 1/10 da concentração no soro. Entretanto existe uma variação considerável na concentração de cortisol ao nível de cada dente. Este foi o primeiro teste medindo-se cortisol no fluido gengival e abre perspectivas para novas pesquisas.

Ainda em 1998, MONTEIRO DA SILVA et al investigaram se fatores psicossociais (depressão, ansiedade, estresse e solidão) poderiam correlacionar com níveis de placa em pacientes com periodontite agressiva e periodontite crônica antes do tratamento periodontal, e se os pacientes com esses tipos de doenças diferiam quanto à placa e tabagismo. Escores de placa foram obtidos de 80 pacientes (40 com periodontite agressiva e 40 com crônica) e um questionário psicossocial foi aplicado, submetendo a um teste de regressão múltipla. Os resultados mostraram que somente o gênero contribuiu significativamente na predição de placa, indicando que placa ocorreu em

níveis menores nas mulheres após ajuste para outras variáveis; não houve diferença quanta à quantidade de placa nos dois tipos de doença periodontal. Por outro lado, pacientes com periodontite agressiva fumavam significativamente mais que os com periodontite crônica; houve também uma correlação entre depressão e tabagismo. Uma possível razão para a falta de associação entre fatores psicossociais e quantidade de placa e ausência de diferenças na quantidade de placa entre pacientes com periodontite agressiva e crônica pode ter sido o fato de que os pacientes desse estudo tinham sido encaminhados para outros profissionais. A diferença nos níveis de placa quanto ao gênero e a maior incidência de fumantes nos pacientes com periodontite agressiva pode ser significativa no planejamento de intervenções.

Estudo de SHAPIRA et al (1999) investigou a resposta do hospedeiro (ratos) a *Porphyromonas gingivalis* na presença de estresse. Os animais foram divididos em quatro grupos com câmaras sub-cutâneas: um grupo foi submetido ao estresse pelo frio, outro pelo isolamento, em outro foi injetado corticosteróide e um grupo foi controle. Após 3 dias de estresse as câmaras foram preenchidas com *P. gingivalis* inativados por calor e então após 1 e 5 dias mais tarde analisou-se o número de leucócitos e os níveis de TNF- α e IFN- γ . Os resultados sugeriram que os níveis de TNF- α induzido pelo *P. gingivalis* no local da infecção foram baixos nos animais estressados e o corticosteróide não é o único mediador responsável. Os baixos níveis de TNF- α presentes no estresse induzido pode ter um impacto na patogênese considerando a doença periodontal em humanos submetidos a estresse emocional.

Nesse mesmo ano, GENCO et al (1999) investigaram a relação da doença periodontal com estresse, angústia e modo de enfrentamento perante situações difíceis, em 1.426 indivíduos com idade entre 25 e 74 anos. Esses indivíduos foram submetidos a 5 questionários psicossociais e também foram registrados múltiplos parâmetros periodontais. Os autores encontraram que as medidas psicossociais de estresse associadas com tensão financeira e tristeza, manifestadas como depressão, são indicadores de risco significantes para doença periodontal mais severa em adultos, em um modelo ajustado pela idade no qual o gênero (masculino), fumante, diabetes mellitus, *B. forsythus* e *P. gingivalis* são também significantes indicadores de risco. Muito interessante é o fato de que uma adequada lida com os problemas pode reduzir o risco de associação ao estresse. Os autores sugeriram novos estudos para se estabelecer

ao longo desses aspectos psicossociais o início e progressão da doença periodontal e os mecanismos que explicariam essa associação.

No ano seguinte, SHAPIRA et al (2.000) investigaram se a resposta funcional de macrófagos (em ratos) estimulados por lipopolisacarídeos de *P. gingivalis* seria afetada por estresse experimental (frio ou isolamento) e também avaliaram o papel de corticosteróide relacionado aos efeitos do estresse. Os resultados mostraram que nos animais estressados o número de macrófagos estava significativamente reduzido em relação aos animais não estressados, o número de macrófagos não diferiu entre os animais tratados com corticosteróide e os animais controles e a secreção de óxido nítrico pelos macrófagos não estimulados não diferiu entre os grupos estressado e controle. A estimulação dos macrófagos com LPS elevou significativamente a secreção de óxido nítrico nos grupos controle e estressados (significativamente mais elevado que o grupo controle), mas não no grupo com corticosteróide. Os resultados sugeriram que o estresse experimental modulou a resposta de macrófagos a estimulantes inflamatórios e que o corticosteróide não é o único mediador envolvido. O estresse induzido maximizou a secreção de óxido nítrico que pode estar envolvido na aceleração da destruição periodontal em sujeitos estressados.

Em 2001, DEINZER et al avaliaram o efeito do estresse na higiene bucal em acadêmicos, considerando uma possível ligação entre o estresse e a doença associada à placa bacteriana. Dezesseis duplas de estudantes de medicina foram utilizadas no estudo, sendo que nas duplas um dos estudantes estava em período de exames acadêmicos enquanto para o outro não havia nenhum exame escolar (indivíduos controles). Registros dos níveis de placa foram feitos no início do estudo; no último dia dos exames (após 6 semanas) os estudantes responderam questionário sobre a higiene oral durante os exames e foram re-examinados clinicamente novamente. $20,9 \pm 18,3$ % dos sítios dos estudantes controles encontravam-se livres de placa, enquanto que no grupo experimental isso ocorreu em apenas $10,5 \pm 9,3$ % dos sítios, sendo que as diferenças foram mais significativas no lado lingual quando comparadas com o lado vestibular. Os estudantes do grupo experimental relataram uma redução na qualidade, mas não na frequência do hábito de higiene bucal. Concluiu-se que o estudo suporta fortemente a idéia que o estresse psicossocial pode induzir uma negligência na higiene bucal, aumentando o acúmulo de placa.

WIMMER et al (2002) investigaram a relação de vários tipos de comportamentos perante o estresse em indivíduos com periodontite. Oitenta e nove sujeitos com periodontite crônica foram incluídos no estudo, dos quais registrou-se história médica, tabagismo, nível educacional, parâmetros periodontais e um questionário para a obtenção de dados psicodiagnósticos do tipo de reação ao estresse. Os resultados corroboraram a tese de que pacientes com periodontite com inadequada reação ao estresse (reação defensiva) apresentam maior risco a doença periodontal severa. Os autores sugeriram novas pesquisas para confirmar a significância de inadequados estilos de reação ao estresse em relação à progressão da doença periodontal.

Nesse mesmo ano, ROBERTS et al (2002) investigaram os efeitos de catecolaminas (adrenalina e nor-adrenalina) no crescimento de 43 microorganismos do complexo microbiano sub-gengival “in vitro”. Os resultados mostraram que os efeitos positivos mais pronunciados no crescimento induzido pela nor-adrenalina ocorreu para *Actinomyces Naeslundii* (+ 49,4%), *Actinomyces gerencseriae* (+ 57,2 %), *Eikenella corrodens* (+143,3 %) e *Campylobacter gracilis* (+ 79,9%); observou-se também efeito inibitório da suplementação da nor-adrenalina para *Porphyromonas gingivalis* (-11,9%) e *Bacteróides forsythus* (-22,2%). As respostas à adrenalina foram semelhantes às da nor-adrenalina. O crescimento de microorganismos de diferentes complexos microbianos foi alterado “in vitro” em resposta a adrenalina e nor-adrenalina e tais variações podem influenciar a composição “in vivo” do biofilme sub-gengival em respostas às mudanças induzidas pelo estresse, podendo desempenhar um papel significativo na etiologia e patogênese das doenças periodontais.

Uma pesquisa foi desenvolvida por ALEKSEJUNIENE et al (2002) com o intuito de avaliar a hipótese de que o estresse psicossocial e o estilo de vida estariam relacionados à condição periodontal. A amostra incluiu um total de 1.296 indivíduos de 10 locais na Lituânia. As informações obtidas incluíam a frequência de higiene bucal, níveis de suporte periodontal e informações sobre fatores psicossociais e estilo de vida. Uma estrutura hipotética foi testada em 2 sub-grupos considerando a idade e o gênero, por meio de uma equação. Os autores concluíram que a ligação entre o estilo de vida e os níveis de suporte periodontal foram empiricamente sustentados no presente estudo,

entretanto a ligação entre o estresse psicossocial e o suporte periodontal remanescente não foi empiricamente suportado, havendo razão para se crer que tal ligação possa existir.

Estudo de HUGOSON, LJUNGQUIST, BREIVIK (2002) avaliou a interação da prevalência de eventos de vida negativos e fatores psicossociais com a doença periodontal, considerando a extensão da doença periodontal com os eventos de vida negativos e a importância das características de personalidade no processo de reação individual a estímulos estressantes em relação à doença periodontal. Compuseram a amostra, 298 indivíduos suecos, dentados, com idade entre 50 e 80 anos, selecionados ao acaso. Foram registrados dados de exames periodontais clínicos e radiográficos e aplicados questionários sócio-econômicos e também registradas as ocorrências ao longo da vida e fatores psicológicos quanto ao estresse. Os resultados mostraram que além dos fatores de risco bem documentados como idade, higiene e tabagismo, a perda do cônjuge e a característica de personalidade exercendo um controle externo extremo podem também estar associadas à doença periodontal severa. Esses resultados concordaram com estudos publicados, que sugerem que eventos traumatizantes da vida quotidiana, como a perda de um esposo, possam aumentar o risco à doença periodontal e que a capacidade de administrar bem os estímulos estressantes pode ter um papel importante na progressão da doença periodontal.

Um artigo de revisão de literatura foi publicado por LeRESCHÉ; DWORKIN em 2002, sobre o papel do estresse na doença inflamatória, incluindo a doença periodontal, revisando os conceitos e as descobertas atuais. Na fenomenologia do estresse a resposta de adaptação geral é essencial para a sobrevivência e que estressores físicos e psicológicos são capazes de iniciar respostas centrais e periféricas para a manutenção da homeostasia. Essas respostas adaptativas podem ser resumidas em 2 categorias: adaptação de comportamento (aumento de excitação, estado de alerta e vigilância, etc.) e adaptação física (respostas respiratórias e cardiovascular, aumento de glicogênese e lipólise, respostas imunes/inflamatórias, etc.). Muitas revisões excelentes tem colocado em evidência a ligação do estresse com a doença periodontal, em que estressores físicos e psicológicos podem ser considerados fatores de risco à periodontite. Na maioria das vezes a literatura que relaciona estresse e doença periodontal foca nos estressores psicológicos e suas influências na suscetibilidade a infecção gengival e/ou

aspectos inflamatórios da periodontite, e que o estresse pode alterar os efeitos do diabetes e tabagismo, aumentar a negligência à higiene bucal e o consumo de dietas inadequadas, alterar o padrão de sono, aumentar o consumo de outras substâncias, como o álcool.

Já em 2003, VETTORE et al conduziram um estudo que teve como propósito analisar a relação do estresse e da ansiedade, medidos por instrumentos psicométricos (Stress Symptom Inventory- SSI , Social Readjustment Rating Scale –SRRS e State-Trait Anxiety Inventory – STAI), com os parâmetros periodontais clínicos, em pacientes com diferentes níveis de destruição periodontal. Foram incluídos no estudo 79 pacientes com idade média de 47 anos, divididos em 3 grupos de acordo com a profundidade de sondagem. Os 3 grupos não diferiram em relação ao percentual de estresse clínico, escores de SRRS e característica e estado de ansiedade. Nível clínico de inserção moderado (4-6 mm) e moderada profundidade de sondagem (4-6 mm) estiveram significativamente associados com maiores escores de ansiedade após ajuste para dados socio-econômicos e consumo de cigarros. Baseados nos resultados os autores concluíram que indivíduos com altos níveis de ansiedade pareceram ser mais propensos à doença periodontal.

Nesse mesmo ano, BENATTI et al (2003) analisaram os efeitos do estresse associado com a nicotina no processo de colapso periodontal, em periodontite induzida por ligaduras em ratos. Vinte animais foram distribuídos em 4 grupos: controle, só nicotina, só estresse por imobilização e estresse por imobilização mais nicotina). A análise inter-grupos revelou maior perda óssea no grupo estresse mais nicotina e ainda um efeito significativo da nicotina em relação aos grupos controle e apenas estresse; entre os grupos controle e apenas estresse não houve diferença significativa. Concluiu-se que embora o estresse isoladamente não tenha afetado a periodontite, aumentou significativamente os efeitos da nicotina no periodonto.

Estudo em animais (ratos), conduzido por HOURI-HADDAD et al (2003) testaram o impacto do estresse emocional na resposta imune humoral em um modelo com inflamação local causada por *Porphyromonas gingivalis*. Todos os animais foram imunizados com *P. gingivalis* e posteriormente câmaras contendo uma carga das bactérias foram instaladas no subcutâneo dos animais. Um grupo de animais serviu de

controle e outros dois foram experimentais, sendo que em um os animais foram estressados (por isolamento) durante o período de imunização (“baseline”), enquanto no outro grupo o estresse foi aplicado durante o período de colocação das câmaras. Exsudato das câmaras e soro foram coletados e analisados quanto ao nível de anticorpos anti - *P. gingivalis* (IgG, IgG1 e IgG2a). Os níveis de anticorpos no soro não foram diferentes para os 3 grupos, exceto IgG2a no grupo estressado no “baseline”. Os níveis de anticorpos no exsudato das câmaras foram significativamente menores no grupo estressado no baseline, mas mais alto no 7º dia. A proporção entre IgG1 e IgG2a foi significativamente maior no grupo controle, comparado com os grupos estressados. Os autores concluíram que as descobertas do estudo sugerem que o estresse psicológico crônico tem um forte impacto na resposta localizada à carga de *P. gingivalis*. A baixa proporção entre IgG1/IgG2a observada nos grupos estressados sugere elevada resposta de Th1 durante o estresse.

Com o objetivo de investigar fatores psicossociais e estilo de vida em pacientes com periodontite crônica e também a proporção do total de casos de periodontite crônica atribuída a um ou mais fatores de risco considerados, uma pesquisa foi desenvolvida por TENG et al (2003). A pesquisa utilizou 250 pacientes com periodontite crônica e 250 indivíduos controles, taiwaneses, semelhantes em idade e gênero. Completo exame bucal e questionários conduzidos para obtenção de dados relativos a estilos de vida e fatores psicossociais foram aplicados em todos os indivíduos de ambos os grupos e então realizou-se análise de regressão logística multivariada. Essa análise evidenciou que em 36,10% dos indivíduos, a frequência de escovação dental, doença mental e tabagismo foram significativos e independentes associados com periodontite crônica e todas essas variáveis refletiram um efeito dose-resposta.

SOLIS et al (2004) conduziram um estudo transversal investigando se ansiedade, depressão e sintomas de apatia estariam associados com doença periodontal. 160 indivíduos foram incluídos no estudo, dos quais registrou-se parâmetros periodontais clínicos e foram aplicados questionários para verificar variáveis psicológicas (ansiedade, depressão, estresse, sintomas psiquiátricos e desesperança): State-Trait Anxiety Inventory, Beck Depression Inventory, Life Events Scale modificado por Savoia, Self-Report Screening questionnaire-20 e Beck Hopelessness Scale). Não ocorreram diferenças nos escores médios das escalas entre os pacientes com e sem

periodontite. A análise de regressão incluindo idade, índice de placa, tabagismo e fatores psicossociais mostrou que pacientes com sintomas psiquiátricos, depressão e desesperança não apresentaram maior risco no desenvolvimento de periodontite. Nenhuma evidência foi encontrada da associação de periodontite com variáveis psicológicas, mas os autores ressaltam que essa associação poderia ser investigada em populações psiquiátricas.

Nesse mesmo ano, TAKADA et al (2004) avaliaram os efeitos do estresse por isolamento em periodontite experimental em modelo animal. Foram incluídos no estudo 100 ratos nos quais foi induzida periodontite pela colocação de ligadura ao redor do 2º molar superior direito; um grupo foi submetido ao estresse enquanto o outro foi o controle; os animais foram sacrificados após 2, 4, 6, 8 e 10 dias. Coletas de sangue foram obtidas para avaliar níveis de glicose, hormônio adrenocorticotrófico, corticosterona e adrenalina. Atrofia do timo e baço foram medidas e análise histológica e histométrica foram realizadas na área de furca dos dentes experimentais. No grupo estressado todos os marcadores de estresse estavam aumentados e o timo e baço atrofiados. No grupo controle houve leve reabsorção alveolar enquanto que no grupo experimental ocorreu forte reabsorção entre os dias 8 e 10. Os resultados sugeriram que o estresse modulou a progressão da inflamação periodontal.

DOLIC et al (2005) pesquisaram a associação entre parâmetros psicológicos e periodontais. Cento e dez pacientes com idade entre 18 e 76 anos foram examinados clinicamente (parâmetros periodontais) e 57 pacientes analisados radiograficamente (perda óssea inter-dental). Além disso, vários questionários foram aplicados: Environmental Sensitivity Questionnaire (ESQ), Chemical and General Environmental sensitivity (CGES), Symptom Check List (SCL-90R - escala de somatização), além do registro de dados médicos e condições sócio-econômicas. Os resultados exibiram significantes correlações entre severa perda óssea e idade; profundidade de sondagem e nível de inserção também correlacionaram com a idade e quantidade de consumo de maços de cigarro por ano. Após ajuste para idade, tabagismo e gênero observou-se uma correlação negativa entre sensibilidade química a odores e perda óssea e também em relação ao nível de inserção. Ainda uma correlação negativa foi observada entre sensibilidade gastrointestinal e nível de inserção. Estresse psicológico correlacionou positivamente com perda óssea. Os resultados deram evidência de associação entre

fatores psicológicos e doença periodontal e muitas características ambientais parecem estar relacionadas positivamente à condição periodontal.

KLAGES; WEBER; WEHRBEIN (2005) compararam 140 pacientes com diferentes graus de sangramento gengival sulcular, com pacientes sem sinais de sangramento, usando instrumento cognitivo de impacto de eventos (Life Experience Survey – LES e Cognitive Avoidance Scale) e sintomas relatados de depressão e somatização (Sympton Check List – SCL-90-R). Também os pacientes foram comparados em relação à condição dental e comportamento quanto à visitas odontológicas; comparação análoga também foi feita em pacientes com diferentes graus de placa bacteriana. Os resultados mostraram que pacientes com altos escores de placa diferiram de seus controles com escore zero, no não comparecimento à visitas odontológicas e tempo da última visita odontológica. Por outro lado, sujeitos com escores altos de sangramento sulcular não somente tinham mais perda dentária e relatavam menor comparecimento às visitas odontológicas que os pacientes controles com escore zero, como também tinham elevados escores de introversão e pensamentos vagos relacionados com eventos de estresse, assim como sintomas de somatização e depressão. Nenhuma diferença foi encontrada nas medidas dos estímulos específicos dos eventos de vida recentes. Os resultados sugeriram que preocupação cognitiva com eventos adversos e a presença de sintomas de somatização e depressão podem influenciar na inflamação gengival.

Um estudo clínico com o propósito de analisar a importância do tipo de reação ao estresse na terapia periodontal e no curso da doença foi desenvolvido por WIMMER et al (2005). Chamou-se a atenção para alguns questionamentos: 1- qual seria o sucesso de tratamento periodontal não cirúrgico em pacientes com diferentes comportamentos ao estresse?; 2- as estratégias individuais relacionadas ao tipo de comportamento ao estresse influenciariam no curso da doença e no resultado do tratamento?; 3- mudanças nas estratégias de comportamento seriam vistas no período de observação? Oitenta pacientes com periodontite crônica e submetidos à terapia não cirúrgica foram incluídos no estudo. Parâmetros clínicos periodontais e dados psicológicos relacionados ao tipo de comportamento ao estresse (questionário – Stress Verarbeitungs Fragebogen – SVF) foram obtidos. Após 2 anos com manutenção regular as condições periodontais foram reavaliadas. Os resultados mostraram que os pacientes com estilo defensivo ao estresse

tinham estatisticamente significante valores de inserção mais pobres comparado a outros tipos de comportamento. A porcentagem de sítios com nível de inserção baixo a moderado (< 5 mm) foi significante menor nos pacientes com estilo defensivo em relação a pacientes com outras estratégias de enfrentamento do estresse. O número de sítios com nível de inserção avançado (> 5 mm) esteve significativamente correlacionado com comportamento reprimido. Nenhum dos estilos de comportamento identificado nos indivíduos mostrou mudanças significantes durante o período experimental. O uso de álcool, nicotina e tranqüilizantes estiveram significativamente correlacionados com os níveis de inserção. Os resultados do estudo mostraram que comportamento passivo em relação ao estresse foi mais marcante na doença avançada assim como em casos de resposta pobre ao tratamento periodontal não cirúrgico, enquanto que pacientes com comportamento ativo apresentavam doença mais branda e um curso mais favorável do tratamento. Assim, comportamento inadequado ao estresse especialmente em associação com comportamentos ligados a fatores de risco como tabagismo, são muito importantes na história médica, tratamento e manutenção de pacientes com doença periodontal.

Nesse mesmo ano, TROMBELLI et al (2005) caracterizaram o comportamento clínico gengival durante gengivite experimental considerando o perfil de personalidade, estresse psicossocial e o tipo de comportamento ao estresse. Foram incluídos no estudo 96 sujeitos (46 homens e 50 mulheres) saudáveis sistemicamente e periodontalmente, com média de idade de 23,6 anos, não fumantes. Em cada sujeito um quadrante maxilar compôs o lado teste enquanto o outro quadrante foi o controle. Parâmetros periodontais foram registrados no início do estudo e no final do período experimental (após 21 dias). Nesse período os voluntários foram expostos à placa bacteriana de forma cumulativa. Todos os indivíduos responderam questionários para se estabelecer o tipo de personalidade (Hardiness Scale and Courtauld Emotional Control Scale), a subjetividade do estresse (Visual Analogue Scale – Total Distress), o apoio social (Multidimensional Scale of Perceived Social Support- MSPSS) e os eventos na vida (Life Experiences Survey- LES). A influência dos fatores psicossociais foi analisada em todo o grupo e também em 2 sub-grupos com diferentes respostas inflamatórias em relação à placa bacteriana. Nenhuma correlação significante foi encontrada entre as variações de inflamação gengival e as condições psicológicas. Nenhuma diferença significante foi detectada entre os sujeitos com diferentes suscetibilidades à gengivite associada à placa

em relação a alguma variável psicológica. Uma significativa associação ocorreu entre variação de placa e LES (negativa) ou MSPSS (positiva), entretanto a diferença exposta pelo modelo foi baixa. Concluiu-se que diferenças no nível de estresse e variáveis psicológicas indicativas de suscetibilidade ao estresse não importam para a variação de placa e inflamação gengival em gengivite experimental em adultos jovens.

Estudo com propósito de analisar a relação entre periodontite e a psicopatologia da depressão, por meio de escalas de observação clássicas e escalas de auto-observação foi realizado por SALETU et al (2005). O papel do sono e distúrbios para o despertar, qualidade de vida e dimensões da personalidade na patogênese da doença periodontal foram estudados, controlando-se idade, tabagismo e índice de placa como fatores de risco concomitantes. 40 pacientes com periodontite foram incluídos no estudo, nos quais realizou-se exames periodontais clínicos e radiográficos e aplicou-se vários questionários(Psychometry comprised the Hamilton Depression Scale, Zung Self-Rating Depression and Anxiety Scales, the von Zerssen Well-being and Complaint Scales, the Epworth Sleepiness Scale, the Pittsburgh Sleep Quality Index, the Quality-of-life Index, Crystallized intelligence e Freiburg Personality Inventory). Análise multifatorial de variância demonstrou aumento nos escores de ansiedade e depressão, redução do bem-estar, aumento de doença somática, deterioração na qualidade de vida e introversão, na doença periodontal. Análise de correlação parcial entre medidas psicométricas e variáveis dentais revelou correlação positiva de severidade de doença periodontal (perda de inserção) com depressão/ansiedade e correlação negativa com qualidade de vida. O índice de placa esteve correlacionado de forma negativa com a orientação social e a perda de inserção esteve positivamente correlacionada com doenças somáticas e introversão. Os autores concluíram que o estado depressivo é um relevante fator patogênico para periodontite.

VETTORE et al (2005) avaliaram a influência do estresse e ansiedade na resposta ao tratamento periodontal não cirúrgico em pacientes com periodontite crônica. 66 pacientes com média de idade de 46 anos foram divididos em 3 grupos: Grupo controle – $PS \leq 4\text{mm}$, Grupo T1- ao menos 4 sítios com $PS \geq 4\text{mm}$ e $\leq 6\text{mm}$ e Grupo T2- ao menos 4 sítios com $PS > 6\text{ mm}$. Estresse, estado de ansiedade e traço de ansiedade (questionários: Stress Symptoms Inventory – SSI; Spielberger State-Trait Anxiety Inventory – STAI) e parâmetros periodontais foram registrados no “baseline” e

após 3 meses. Os escores de traços de ansiedade foram diferentes entre os grupos no “baseline” e após o tratamento periodontal não cirúrgico; os traços de ansiedade estiveram relacionados com periodontite no “baseline” e após o tratamento periodontal. Índice de Placa esteve associado com estado de ansiedade no “baseline”. A redução na frequência de sítios com nível clínico de inserção > 6 mm esteve correlacionada com traços de ansiedade após ajuste para outros fatores. Indivíduos estressados não exibiram redução da frequência sítios com PS > 6 mm (T1) e níveis clínicos de inserção entre 4-6 mm e > 6 mm (T2). Os dados sugeriram uma influência dos traços de ansiedade e estresse na resposta à terapia periodontal não cirúrgica.

No ano seguinte, HUGO et al (2006) investigaram os efeitos do estresse, depressão e níveis de cortisol no acúmulo de placa bacteriana e gengivite em uma população acima de 50 anos. Este estudo transversal incluiu 230 sujeitos selecionados dentre assistentes de centros sociais vinculados a indivíduos com problemas mentais. A condição de estresse foi registrada utilizando “Lipp Stress Inventory” e para os sintomas de depressão utilizou-se “Beck Stress Inventory”. Três coletas de saliva durante o dia foram obtidas para dosagem de cortisol; índices de placa e gengival também foram coletados e foi aplicado o teste de regressão a multivariáveis. Os resultados indicaram que o estresse esteve significativamente associado com elevados níveis de placa e gengivite, mas os sintomas de depressão não estiveram associados com elevados níveis de placa ou gengivite. Níveis elevados de cortisol estiveram associados com maiores índices de placa. As descobertas suportam a hipótese que mudanças imunológicas como a hipercortisolemia e estresse psicológico são importantes indicadores de risco para pobre higiene bucal, como evidenciado pelo acúmulo de placa e gengivite. Esses resultados apontam para um relação mais complexa entre estresse e periodontite.

Ainda em 2006, HILGERT et al avaliaram a extensão e a severidade da periodontite crônica em associação com níveis de cortisol salivar e escores obtidos em questionários para avaliação de estresse (Lipp’s Inventory of Stress Symptoms for Adults) em uma população com mais de 50 anos (235 indivíduos). Parâmetros clínicos periodontais também foram registrados. Baseado em teste de regressão, os níveis de cortisol estiveram positivamente associados com nível de inserção clínica e profundidade de sondagem. Não houve correlação do nível de cortisol com o índice de fases de estresse psicossocial, talvez segundo os autores, devido a diferentes tipos de

reações individuais. Entretanto concluiu-se que os níveis de cortisol foram associados com a extensão e a severidade da periodontite após ajuste para variáveis importantes como idade, gênero, higiene bucal, tabagismo e sangramento à sondagem.

NG; LEUNG (2006) investigaram a relação entre doença periodontal (considerando nível de inserção clínica) e o estresse psicossocial (baseado em questionários registrando eventos significativos na vida, tensão diária, reações ao estresse incluindo respostas fisiológicas e afetivas). Mil indivíduos com idade entre 25-64 anos foram incluídos no estudo. Os resultados mostraram que indivíduos com médias altas de nível de inserção tinham mais altos escores de tensão no trabalho e financeira em relação aos indivíduos saudáveis após ajuste para variáveis como idade, gênero, tabagismo e doenças sistêmicas. Depressão, ansiedade, reação ao estresse focado no problema e reação ao estresse focado no emocional também foram comparados com níveis clínicos de inserção, e a análise de regressão indicou que todos esses fatores foram significantes indicadores de risco para perda de inserção periodontal, exceto reação ao estresse focado no problema. Os autores concluíram que tensão no trabalho e financeira, depressão, inadequada reação ao estresse e característica de não adaptação a situações estressantes são significativos indicadores de risco para perda de inserção periodontal. Adequado comportamento em relação ao estresse e característica de adaptação, evidenciado como a reação focada no problema e baixa ansiedade/depressão podem reduzir esse risco.

Um estudo conduzido por NAKAJIMA et al (2006) examinou os efeitos do estresse por isolamento, no colapso periodontal em periodontite em ratos inoculados com *Pophyromonas gingivalis*. Vinte ratos machos “germ-free” foram divididos em 4 grupos: Grupo A – controle, Grupo B- submetidos ao estresse por isolamento 12 h/dia por 22 dias, Grupo C- inoculados bucalmente com *P. gingivalis* e Grupo D- expostos ao estresse 12h/dia por 22 dias e com inoculação bucal com *P.gingivalis*. Após 22 dias os animais foram sacrificados e a distância da crista óssea alveolar à JCE foi registrada, concentração de hormônio adrenocorticotrófico foi medido como marcador de estresse e atrofia do timo e baço foi avaliada. Área de furca de molares maxilares foram avaliadas histologicamente e também se avaliou a expressão gênica para citocina na gengiva. Os resultados mostraram que no grupo B, todos os marcadores de estresse estiveram elevados e o timo e baço atrofiados, no grupo D os resultados foram significativamente

maiores para perda óssea e osteoclastos foram observados; também houve baixa expressão gênica para citocinas nos grupos B e D. Os autores concluíram que a presença de estresse por isolamento intensificou a progressão de periodontite em ratos inoculados com *P. gingivalis*.

JOHANNSEN et al (2006) investigaram a importância do estresse no desenvolvimento de periodontite, comparando-se a condição de saúde bucal, marcadores pró-inflamatórios e cortisol no fluido gengival e salivar em pacientes com estresse mental/depressão (grupo experimental) e pacientes controles. A amostra incluiu 43 mulheres com estresse/depressão e exaustão (média de idade de 42 anos) e 29 controles (média de idade de 54 anos). Parâmetros clínicos periodontais e saliva e fluido gengival foram coletados (dosagem de IL-1 β , IL-6, metaloproteinase-9 e cortisol). Os resultados mostraram, que a quantidade de placa e o índice gengival foram significativamente maiores nos sujeitos com estresse comparado aos controles. O nível de cortisol no fluido foi muito maior no grupo experimental em relação ao controle, enquanto na saliva não houve diferença. Os níveis de IL-6 no fluido gengival foram significativamente maiores no grupo experimental. Os autores sugeriram que a depressão pode afetar a função imune, o que poderia prejudicar a saúde periodontal.

Publicação de KLOOSTRA; EBER; INGLEHART (2007) analisou a segurança de periodontistas na detecção de pacientes com ansiedade, estresse ou depressão, assim como seus conhecimentos sobre a relação entre esses fatores e a dor, uso de analgésicos e cicatrização após terapia periodontal. Os dados foram coletados de 171 membros da American Academy of Periodontology. Os entrevistados mostraram mais conhecimentos sobre os efeitos da ansiedade e estresse sobre a dor, no uso de analgésicos e na cicatrização do que os impactos da depressão. Eles declararam de forma consistente que eram mais confiantes na capacidade de perceber quando os pacientes estavam ansiosos e estressados do que quando eles eram depressivos, e também ofereceram acomodações mais adequadas para pacientes ansiosos e estressados em relação aos deprimidos. Concluiu-se que os profissionais eram significativamente menos informados sobre o impacto da depressão nas respostas dos pacientes em relação ao tratamento periodontal e dadas as evidências da relação de depressão, ansiedade, estresse, dor, uso de analgésico e cicatrização, torna-se importante educar os periodontistas sobre o papel desses aspectos psicológicos na terapia periodontal.

Estudo transversal de ISHISAKA et al (2007) investigou a associação entre 2 tipos de hormônios ligados ao estresse (cortisol e dehidroepiandrosterona) com a periodontite, em japoneses adultos com idade acima de 60 anos. 171 sujeitos participaram da pesquisa, dos quais foram colhidas amostras de saliva, e questionários foram aplicados para investigar a condição médica, estilo de vida e estresse psicossocial; também parâmetros periodontais foram registrados. Os resultados exibiram uma correlação positiva entre os níveis dos hormônios e a profundidade de sondagem e o nível clínico de inserção. Quando os indivíduos foram divididos em 2 grupos de acordo com a severidade periodontal, os níveis hormonais foram significativamente mais altos nos casos mais severos. Análise de regressão múltipla mostrou que os maiores níveis hormonais estiveram associados com significante maior número de dentes com severa profundidade de sondagem e nível de inserção, após o ajuste para outras variáveis. Esses resultados sugeriram íntima relação entre extensão e severidade da periodontite e níveis hormonais na saúde de indivíduos idosos.

Nesse mesmo ano, JOHANNSEN et al (2007) investigaram a condição periodontal em relação a marcadores inflamatórios e cortisol do fluido gengival e saliva, de um grupo homogêneo de mulheres em isolamento por longo tempo, devido estresse no trabalho relacionado com depressão (grupo experimental), comparado com mulheres sem depressão (grupo controle). Participaram da pesquisa 20 mulheres com depressão (média de idade 48 anos) e 29 controles saudáveis (média de idade 54 anos). Foram realizados exames clínicos periodontais e colhidos fluido gengival e saliva para dosagens de IL-1 β , IL-6, MMP-8 e MMP-9. Os resultados mostraram que as pacientes deprimidas tinham significativamente maior inflamação gengival, bolsas mais profundas que os indivíduos controles após o ajuste para tabagismo. Os níveis de IL-6 no fluido gengival foram significativamente mais altos nos indivíduos estressados do que nos controles; não houve diferenças significantes nos níveis de IL-1 β , MMP-8 e MMP-9. O grupo experimental tinha menores níveis de cortisol no fluido que no grupo controle, enquanto que os níveis de cortisol salivar foram similares em ambos os grupos. Concluiu-se que as mulheres com depressão tinham mais severa periodontite e mais alta concentração de IL-6 no fluido gengival. Uma alteração do sistema imune nesses pacientes pode ser interpretada como um reflexo das consequências à exposição ao

estresse de longo tempo, podendo contribuir para a piora das condições periodontais nesses indivíduos.

Com o propósito de avaliar se angústia e a forma de reação ao estresse mediariam a relação entre posição sócio-econômica e perda dental, SANDERS et al (2007) elaboraram uma pesquisa. Dados transversais de 2.915 adultos de meia idade registraram a quantidade de dentes presentes (referencial - menos de 20 dentes), comportamento individual, estresse psicológico (Perceived Stress Scale- PSS) e características sócio-demográficas. Indivíduos sob alguma privação mostraram mais altos níveis de estresse psicológico, comportamento de risco e presença de menos de 20 dentes. Análise separada de angústia e tipo de reação ao estresse revelou um significativo efeito ao tipo de reação; angústia não foi associada com presença de menos de 20 dentes, enquanto a forma de reação ao estresse esteve inversamente associada com menos de 20 dentes, ou seja, enquanto a angústia variou com privação e comportamento de risco e não houve relação com perda dental, a forma de reação ao estresse teve um efeito protetor contra a perda dental e pode agir via comportamental. As descobertas apoiaram em parte a hipótese de que estresse psicológico media a relação entre posição sócio-econômica e perda dental, visto que o tipo de reação ao estresse foi protetor contra a perda dental.

Revisão sistemática, foi conduzida por PERUZZO et al (2007), de estudos de controles de casos, estudos transversais e estudos prospectivos sobre a influência do estresse e fatores psicológicos na doença periodontal. O foco desta revisão foi verificar se as evidências científicas são suficientes para considerar o estresse e os fatores psicológicos como fatores de risco à doença periodontal. Para a procura dos estudos na literatura utilizou-se bases de dados do MEDLINE e Cochrane Oral Health Group, considerando apenas artigos publicados na língua inglesa, sendo que 2 revisores independentes extraíram as informações a respeito da qualidade e características do estudo. De 58 artigos identificados na procura, 10 foram excluídos porque eram revisões e 34 não preenchiam os critérios de seleção e apenas 14 foram analisados. Destes 14 estudos, em 57,1% encontrou-se uma positiva relação entre estresse/fatores psicológicos, em 28,5% observou-se uma associação positiva para algumas características e negativa para outras e em 14,2% houve correlação negativa. Os autores concluíram que embora a maioria dos estudos tenham mostrado uma relação positiva

entre estresse/fatores psicológicos e doença periodontal, estudos mais representativos e melhores delineados devem ser considerados para confirmar essa correlação.

Outro artigo de revisão foi publicado por RENERS; BRECX (2007) sobre a inter-relação estresse e doença periodontal e afirmaram que devido ao melhor conhecimento da dinâmica do estresse e do progresso na psico-neuro-imuno-endocrinologia e também devido ao impacto que o estresse tem sobre o comportamento, é clara a influência do estresse na doença periodontal. Qual o nível e quanto exatamente é essa influência, não é totalmente compreendido e mais estudos são necessários, entretanto mudanças na prática cotidiana podem ser implementadas. É muito importante o conhecimento da situação do paciente para ajudá-lo na manutenção da saúde periodontal; pessoas que são isoladas, que tem problemas financeiros, deprimidas ou com estratégia de resposta passiva ao estresse, podem ser de risco. A situação de estresse dos pacientes deve ser registrada e para ajudar tais pacientes a diminuir o estresse, quando necessário recomendá-los ao psicólogo ou a outros especialistas que atuem na área.

Nesse mesmo ano, novo artigo de revisão de literatura foi publicado por BOYAPATI; WANG (2007), sobre o papel do estresse psicológico na doença periodontal e na cicatrização, abordando estudos em animais e em humanos. Os autores concluíram que o papel do estresse na doença periodontal humana apresenta uma plausível base patofisiológica. Evidências sugerem que o estresse esteja associado com doença periodontal mais severa, assim como mais pobre cicatrização na terapia periodontal convencional. Estas associações ocorrem devido a mudanças de comportamento (tabagismo, abuso de álcool, etc.) e efeitos imunossupressores (diminuição da função de leucócitos polimorfonucleares, alteração na proporção entre células Th1/Th2, etc.). Esses aspectos sugerem que o controle do estresse pode ser um componente valioso na prática periodontal cotidiana. Por outro lado, a maioria das publicações encontradas até o presente na literatura, consiste de casos clínicos ou estudos retrospectivos, tendo muito poucos estudos controlados e por isso o exato papel dos fatores psicológicos na relação estresse-cicatrização periodontal deve ainda ser esclarecido em novas pesquisas.

Em 2008, PERUZZO et al analisaram se o estresse crônico afetaria a doença periodontal induzida por ligaduras, e o impacto do estresse nos níveis de IL-1 β , IL-1ra, IL-6, IL-10, IFN- γ , RANKL e OPG. 60 ratos foram distribuídos em 3 grupos: G1- animais controles sem ligaduras, G2- doença periodontal e G3- doença periodontal associada a estresse por isolamento 12h/ dia por 30 dias. Após esse período, os animais foram sacrificados, coleta sanguínea foi realizada para análise de níveis de corticosterona e catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) e tecido marginal gengival foram obtidos para análise de expressão gênica. A quantidade de perda óssea foi analisada histometricamente. Os resultados mostraram que a condição estressante aumentou os níveis de marcadores de estresse no soro, a colocação de ligaduras resultou em significativa perda óssea comparado aos sítios sem ligadura e o estresse aumentou significativamente a quantidade de perda óssea nos sítios inflamados. Ainda o estresse aumentou de forma significativa os níveis de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-6 e IFN- γ) e citocina anti-inflamatória (IL-10) e fator pró-reabsorção (RANKL) e OPG nos sítios com ligadura. Concluiu-se que o estresse pode promover um descontrole no sistema pró/anti-inflamatório e pró/anti-reabsorção nos tecidos periodontais, mas estudos adicionais são necessários para avaliar o papel de outros fatores importantes, como outras citocinas, e produtos psiconeuroimunológicos que estariam envolvidos na patogênese do estresse modulando o colapso periodontal .

No ano seguinte, ROSANIA et al (2009) analisaram a associação entre fatores psicológicos, marcadores de doença periodontal, variáveis psiconeuroimunológicas e de comportamento. A amostra incluiu 45 pacientes com periodontite, nos quais avaliou-se a condição de saúde, estresse crônico, depressão, questões demográficas, cortisol salivar e condições periodontais. Os resultados indicaram que estresse, depressão e cortisol salivar estiveram correlacionados com as medidas das condições periodontais e que a negligência aos cuidados com higiene bucal nos períodos de estresse e depressão foi associada com perda de inserção e perda dentária. Após o ajuste para idade, história familiar e frequência de escovação, depressão e cortisol foram previsores significantes do número de dentes perdidos, assim como para perda de inserção > 5 mm. Concluiu-se que estresse e depressão podem ser associados com destruição periodontal através de mecanismos fisiológicos e comportamentais. Análise de fatores psicológicos, tal como depressão, pode ser uma parte importante na manutenção preventiva periodontal.

Ainda em 2009, CHIOU et al investigaram a associação da condição periodontal com fatores psicossociais e tabagismo na população. Questionários (Chinese Health Questionnaire – CHQ-12) foram aplicados em 1.764 taiwaneses, com objetivo de avaliar desordens psiquiátricas não-psicóticas, incluindo ansiedade, depressão, distúrbios do sono, sintomas somáticos e outros. Além do questionário também foram registrados parâmetros periodontais. Os resultados indicaram que fatores psicológicos e tabagismo estiveram significativamente associados com perda de inserção, mas não com o índice periodontal comunitário. A associação foi mais marcante entre fumantes que não fumantes, ou seja, fumantes com um CHQ-12 com escore ≥ 6 tinham mais perda de inserção que não fumantes. Para a saúde periodontal, medida pelo índice comunitário, sujeitos casados e divorciados/viúvos tenderam a ter condições mais pobres que indivíduos solteiros entre os não fumantes, mas não entre os fumantes. Concluiu-se que pobre saúde mental teve uma associação mais forte com doença periodontal entre fumantes em relação aos não fumantes, especialmente na perda de inserção acumulada e isso sugere que saúde mental e tabagismo podem ter um efeito sinérgico no risco de desenvolvimento de doença periodontal.

RAI et al em 2010 realizaram uma pesquisa com o objetivo de analisar o estresse crônico ou depressão e doença periodontal pela medida do comportamento, variáveis psicológicas, marcadores salivares do estresse tais como cromogranina A, amilase α , cortisol, β endorfina, e explorar as condições comportamentais e imunológicas e correlacionar com os parâmetros periodontais. Nesse estudo 100 pacientes foram considerados e forneceram informações sobre saúde geral, estresse crônico e dados demográficos; marcadores de estresse foram analisados de coletas de saliva. Avaliou-se presença de placa nas superfícies V e L dos dentes, registrou-se índice gengival e o número de dentes remanescentes em relação à doença periodontal. Os resultados mostraram que os marcadores salivares estiveram significativamente correlacionados com os parâmetros clínicos da doença periodontal, que a negligência na escovação dental durante o estresse esteve associado com a perda de dentes. Após o ajuste para variáveis do estresse, cortisol salivar e β endorfina estiveram significativamente associados com a perda dental e com os parâmetros clínicos periodontais. Os autores concluíram que o estresse pode estar associado com a doença periodontal através de mecanismos psicológicos e comportamentais.

III.3- Citocinas no estresse e na doença periodontal

Nesse capítulo estão dispostos cronologicamente estudos que focam a participação dos mediadores inflamatórios, relacionados à condição de estresse e relacionados à doença periodontal, particularmente as citocinas IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 e TGF- β , alvos de análise dessa pesquisa.

DUGUÉ et al (1996) realizaram um estudo (14 voluntários) que teve como propósito investigar a presença de diversas IL na saliva, e as modificações de suas concentrações após estresse físico. Os efeitos de um tipo de estresse somático (calor) na concentração de citocinas salivares foram analisadas por testes Elisa; também se analisou o cortisol salivar. Cada indivíduo participou de uma sessão “controle” e uma sessão de estresse (“teste”), no mesmo horário em dias diferentes. A saliva foi colhida no dia “controle”, 15 (R1) e 45 (R2) minutos após os pacientes estarem sentados. No dia “teste”, a saliva foi colhida após 15 minutos de repouso (sentados) (S1) e 30 minutos mais tarde (S2) após serem submetidos à exposição por calor (sauna à 90° C, por 10 minutos, com 40% de umidade). Os resultados mostraram que a saliva continha IL-1 β , TNF- α e receptor para IL-2 em concentrações basais. A IL-6 foi detectada em 60% das amostras, IL-2 e receptor para IL-6 não foram detectados. Analisando as diferenças estatísticas na relação R1/R2 e S1/S2, na relação S1/S2 houve significativo aumento para TNF- α nos homens. Os resultados indicaram que a situação de elevação de temperatura esteve associada com a elevação da concentração de TNF- α . Ocorreram mudanças no nível de cortisol bem definidas em alguns pacientes após o calor, mas sem significância estatística.

Em 1997 LU; MACKENZIE; LEVINE com o objetivo de esclarecer o papel potencial do TGF- β na regeneração e adesão do epitélio gengival, realizaram um estudo examinando os efeitos do TGF- β no desenvolvimento do epitélio juncional (EJ) e epitélio gengival oral (EGO), determinando o padrão de expressão de mRNAs para isotipos de TGF- β (β 1, β 2 e β 3) e tipos de receptores para TGF- β (I, II e III). Culturas de células de EJ e EGO foram realizadas, com confirmação dos fenótipos celulares utilizando anticorpos monoclonais específico para ceratina. TGF- β induziu uma

significante inibição no crescimento de células derivadas do EGO de 6 diferentes pacientes (inibição de 16 à 70% - média de 46%). Embora as respostas variaram entre os pacientes, em geral inibição máxima ocorreu com concentração de 10 ng/ml de TGF- β . Células do EJ de 5 pacientes não mostraram inibição de crescimento significativa. A maior expressão de TGF- β 2 e receptor tipo I de mRNA foi encontrado no EGO que não expressaram mais receptor específico de mRNA tipo II para TGF- β que células do EGO, mas a expressão de mRNA para TGF- β 1 foi similar para ambos os tipos de células. Culturas de células derivadas de EJ ou EGO em 2 de 3 pacientes mostraram expressão de mRNA para receptor tipo III para TGF- β . mRNA para TGF- β 3 não foi detectado em nenhum dos espécimes examinados. A maior sensibilidade de células do EGO em relação às células do EJ em relação ao efeito inibidor do crescimento correlacionou com maior expressão de receptor de mRNA tipo I, juntamente com receptor tipo II. Os resultados sugeriram que além das diferenças estruturais, o desenvolvimento de diferenças funcionais na resposta de células do EJ e EGO ao TGF- β pode estar associado com a formação das células do EJ e EGO e adesão após cirurgia periodontal.

No mesmo ano, GEMMEL; MARSHALL; SEYMOUR (1997) discutiram o papel das citocinas na homeostasia e na destruição tecidual na doença periodontal. O tipo de resposta imune que ocorre na exposição a um patógeno é vital na determinação à resistência ou suscetibilidade à doença. As citocinas induzidas localmente são fundamentais devido aos diferentes efeitos na função das células da circunjunção, que por sua vez determinam o curso da resposta (resistência ou suscetibilidade) a um patógeno particular. As citocinas são reconhecidas como vitais na imunopatologia de muitas doenças, e a produção de citocinas “apropriadas” é essencial para o desenvolvimento da imunidade protetora; se citocinas “inapropriadas” são produzidas, doença destrutiva ou progressiva pode resultar. Citocinas são reguladores celulares que tem principal influência na produção e ativação de diferentes células efetoras. Células T e macrófagos são a principal fonte, embora também sejam produzidas por uma ampla gama de células que desempenham papéis importantes em muitas respostas fisiológicas.

Citocinas são proteínas de baixo peso molecular, envolvidas na iniciação de estágios efetores da imunidade e inflamação, que regulam a amplitude e duração da resposta. Elas são normalmente produzidas transitoriamente, são extremamente

potentes, geralmente agem em concentração em nível picomolar e interagem com receptores específicos da superfície celular, que estão normalmente expressos relativamente em baixo número. Muitas citocinas são produzidas por tipos restritos de células, tal como IL-2 produzida por células T, enquanto outras, incluindo IL-1 e IL-6 são produzidas por muitos diferentes tipos celulares. Muitas citocinas são pleiotrópicas, tendo múltiplas atividades sobre diferentes células alvo e/ou sobrepondo ações reguladoras celulares, mas apesar dessa sobreposição, as funções das citocinas podem não ser idênticas. A resposta de uma célula a uma determinada citocina, depende da concentração no local, do tipo de célula e de outros reguladores celulares a que estão continuamente expostos. As citocinas interagem em rede: primeiro pela indução mútua, segundo pela transmodulação em receptores da superfície celular e terceiro por interação sinérgica, aditiva ou antagonica na função celular.

A IL-4 é produzida por células T, mastócitos e basófilos e é um fator importante na expansão clonal de células B antígeno-específicas. A produção de isotipos é regulada pela IL-4. A IL-4 tem múltiplos papéis nas células envolvidas na imunidade: induz proliferação de células T, tem potente atividade anti-tumor, que tem sido atribuída a infiltração de eosinófilos citotóxicos seguido de células T citolíticas tumor-específicas; contribui para regulação imune negativa pela capacidade de reduzir receptores para IL-2, e então inibe muitas atividades da IL-2, incluindo a formação de células “Natural Killer” (NK) e eleva a atividade do IFN- γ , ativação de macrófagos e suas atividades anti-microbianas. Pode também por outro lado, bloquear a formação de óxido nítrico dos macrófagos, necessário para a morte dos parasitas intra-celulares. A IL-4 também regula negativamente a produção de outras citocinas como IL-1, TNF- α e β e IL-6 em monócitos do sangue periférico. Ainda, a IL-4 regula a indução de células Th2.

A IL-10 tem seu principal papel na supressão da resposta imune e inflamatória. É produzida por células Th0, Th1, Th2, células B, monócitos e macrófagos após ativação. A IL-10 suprime respostas de célula T a antígeno-específico pela inibição da capacidade da apresentação de antígeno aos macrófagos, que ocorre pela regulação negativa da principal expressão do complexo de histocompatibilidade (classe II). A IL-10 também inibe a apresentação do antígeno pelas células de Langerhans, reduz significativamente a proliferação e produção de citocinas por clones Th1 e Th2 expostos a antígeno específico. Também a IL-10 tem efeito inibitório direto sobre a produção de IFN- γ e contribui na supressão de IFN- γ por macrófagos, na destruição por patógenos,

age como fator quimiotático específico para células T CD8 e suprime a capacidade de células T CD4 migrar em resposta a IL-8. A IL-10 é um potente fator de crescimento e de diferenciação para células B ativadas e pode ter papel importante na amplificação da resposta imune humoral. Embora ambas, células Th1 e Th2 produzam e podem ser inibidas pela IL-10, em geral a IL-10 promove resposta Th2 enquanto suprime reação de hipersensibilidade tardia e outras reações mediadas por células Th1. Como um potente reagente anti-inflamatório, a IL-10 age na diminuição da patologia associada a muitas doenças, como artrite reumatóide, psoríase e infecções bacterianas.

O fator de crescimento transformador (TGF- β) é um agente anti-inflamatório, produzido localmente no local da reabsorção óssea e tem sido associado ao início de formação de novo osso. Parece ser um inibidor de IL-1 e age reduzindo o nível de receptores de IL-1 constitutiva ou induzida.

A IL-8 é produzida por ampla variedade de células incluindo neutrófilos, monócitos e macrófagos, fibroblastos e queratinócitos em resposta a microorganismos, mitógenos e mediadores endógenos tais como IL-1 e TNF. A IL-8 tem sido implicada como principal participante de muitas doenças; uma das maiores funções da IL-8 é sua capacidade em induzir a migração direcional de células incluindo neutrófilos, monócitos e células T, tendo um papel chave no acúmulo de leucócitos no local da inflamação.

Um artigo de revisão foi realizado por PEPPER (1997), sobre a ação do TGF- β na vasculogênese, angiogênese e integridade da parede vascular. Parece que TGF- β e seus receptores são importantes reguladores positivos da diferenciação de células endoteliais, na formação da rede vascular e no estabelecimento e manutenção da integridade da parede dos vasos. Vasos que formam na ausência de ligante ou seus receptores são frágeis e isso parece ser devido à incompleta maturação da parede vascular, seguido por um aumento da pressão hemodinâmica durante o desenvolvimento, resultando na ruptura e hemorragia. Com respeito a angiogênese, ainda não está claro se TGF- β está envolvido na regulação endógena desse processo. A respeito de seu efeito direto em células endoteliais, estudos “in vitro” sugerem que a resposta depende se TGF- β 1 está presente durante a fase de ativação ou resolução da angiogênese, assim como a concentração local da citocina ativa. Com relação ao processo de cicatrização, TGF- β tem mostrado acelerar esse processo por estimular diretamente fibroblastos a sintetizar e depositar uma matriz rica em colágeno com conseqüente aumento na força tensil; a aceleração da cicatrização pelo TGF- β 1 está

invariavelmente associada com um infiltrado celular inflamatório. O TGF- β 1 tem sido relatado estimular angiogênese durante a cicatrização, com aumento do número, tamanho de vasos e ramificações.

Pesquisa realizada por YAMAMOTO et al (1997) analisou a possível influência de citocina Th1 e/ou Th2 de células T CD4⁺ no desenvolvimento da doença periodontal. Para a análise, citocina Th1 e Th2 expressadas por células T CD4⁺ foram extraídas por PCR-RT usando primers específicos para IFN- γ e IL-2 (Th1), IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13 (Th2). Dois distintos perfis de citocinas foram notados, baseado na expressão das citocinas selecionadas Th1 e Th2; um padrão foi representado pela expressão de mRNA para IFN- γ , IL-6, IL-10 e IL-13, enquanto o outro padrão consistiu de mRNA para IFN- γ , IL-6 e IL-13. Exceto para poucos casos, mensagens para IL-2, IL-4 e IL-5 não foram detectadas no RT-PCR. A expressão predominante de citocinas Th2 (IL-6, IL-10 e IL-13) pode contribuir na indução de altas respostas de células B em sítios com doença. Por outro lado, a falta de IL-4 pode ser responsável pelo acúmulo de macrófagos no periodonto doente. Os autores também investigaram se haveria uma relação entre expressão de receptor de IL-4 (IL-4R) e persistência de macrófagos na ausência de IL-4 exógena. Macrófagos gengivais quando comparados com monócitos, os macrófagos expressaram mais altos níveis de IL-4R mRNA. Quando macrófagos gengivais foram incubados com IL-4 recombinante, a viabilidade celular foi drasticamente reduzida por apoptose. Essas descobertas mostram claramente que a falta de IL-4 pode contribuir para a persistência de macrófagos no sítio doente.

Revisão de literatura realizada por GROTHENDORST (1997) explora a relação do TGF- β com fibroblastos. O TGF- β age como um potente estimulador para a formação de tecido conjuntivo durante o processo de reparo e em condições fibróticas. Elevados níveis teciduais de mRNA para TGF- β tem sido registrados em locais de injúrias durante o processo normal de reparo, em várias desordens fibróticas da pele e em tecidos e órgãos internos. O aumento de tecido conjuntivo parece ser mediado por múltiplos processos regulados por TGF- β incluindo: aumento da proliferação de fibroblastos, síntese elevada de componentes da matriz extra-celular (fibronectina, colágeno tipo I, laminina, produção de glicosaminoglicanas) e diminuição da degradação da matriz extra-celular devido à inibição direta da atividade de protease e estimulação da síntese de inibidores de protease. A ação estimuladora de crescimento do

TGF- β parece ser mediada por um mecanismo indireto envolvendo o fator de crescimento de tecido conjuntivo (CTGF). O CTGF é um peptídeo mitogênico rico em cisteína que une à heparina e é secretado por fibroblastos após ativação pelo TGF- β .

Em 1998 ELLIS et al realizaram estudo com objetivo de identificar alguns agentes responsáveis pela exacerbação da resposta inflamatória na doença periodontal. Nesse estudo utilizou-se biópsias de 3 grupos de tecido gengival: adjacentes a sítios normais (PS $\leq$ 3mm), PS de 4 a 6 mm e PS $>$ 6 mm. Os resultados mostraram que a atividade da dismutase superóxido(SOD) e catalase, níveis de IL-12 e bcl-2 (um regulador de apoptose) diminuíram quando PS $>$ 6mm, comparado com os outros grupos (4-6 e $\leq$ 3 mm). Células apoptóticas estiveram evidentes somente na gengiva dos sítios $>$ 6mm. Esses dados sugeriram que IL-12 é um importante fator na mudança do perfil celular Th1 para Th2 e que um micro-ambiente gengival favorável para hiperinflamação pode desenvolver progressão da doença periodontal devido decréscimo de bcl-2 e aumento da concentração de IL-6 na gengiva. Essas mudanças no micro-ambiente gengival poderiam prejudicar a apoptose e promover aumento da liberação de oxigênio reativo por fagócitos, diminuir a atividade da catalase e SOD, podendo promover acúmulo de oxigênio reativo, resultando em destruição tecidual adicional.

Nesse mesmo ano, KUSHNER (1998) avaliou semanticamente muitos termos que são empregados regularmente na área biológica e que muitas vezes são imprecisos e podem oferecer conceitos indesejáveis. Um exemplo explorado pelo autor refere-se aos mediadores “pró” e “anti” inflamatórios. A caracterização dos mediadores inflamatórios, particularmente as citocinas, como pró ou anti-inflamatórias, falham em identificar moléculas puramente anti-inflamatórias. O efeito de uma citocina depende do contexto no qual ela age. Citocinas são componentes de ampla complexidade, e seus efeitos sobre células alvo podem ser inibidos ou realçados por outras citocinas, por hormônios, por neuropeptídeos e neurotransmissores e por moduladores de citocinas (tais como antagonistas de receptores e receptores circulantes). Está tornando-se cada vez mais claro que há muitas citocinas que desempenham diferentes papéis na evolução e resolução da inflamação (capacidade multifuncional). Citocina multifuncional TGF- β é, por um lado, um potente quimioatraente e ativador de monócito e por outro lado, um importante contribuidor da cicatrização. Estudos mostram que IL-4 tem muitas atividades anti-inflamatórias, mas também demonstra efeitos pró-inflamatórios. A IL-4

e a IL-13 aumentam a adesão de moléculas e a IL-13 pode recrutar células inflamatórias. Em contraste, a citocina pró-inflamatória TNF- α , induz a atração de receptor anti-inflamatório de IL-1 tipo II. O IFN- γ pode desempenhar papel pró ou anti-inflamatório assim como prostaglandinas e óxido nítrico. A IL-6 pode ser induzida por citocinas anti-inflamatórias como IL-4 e por citocinas pró-inflamatórias como IL-1 e TNF- α . A IL-6 é comumente vista como pró-inflamatória, mas atualmente pode ser vista como anti-inflamatória.

Publicação de MAES et al (1998) investigou a possibilidade do estresse psicológico afetar a produção de citocinas pró-inflamatórias e imunorreguladoras. Amostras de sangue de 38 estudantes de medicina foram colhidas semanas antes, no dia e semanas após o exame acadêmico. O estresse psicológico aumentou significativamente a produção de TNF- α , IL-6, IL-1Ra (antagonista do receptor de IL-1), IFN- γ e IL-10. Os estudantes com mais alta percepção de estresse tiveram produção significativamente mais alta de TNF- α , IL-6, IL-1Ra e IFN- γ em relação aos estudantes com menor percepção ao estresse. Estudantes com alta ansiedade tiveram significativamente mais alta produção de IFN- γ e uma produção mais baixa de citocinas imunorreguladoras negativas (IL-10 e IL-4) que os estudantes sem ansiedade. Os autores concluíram que em humanos, mudanças na produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-6 e IFN- γ) e citocinas imunorreguladoras negativas (IL-10 e IL-4) participam nas respostas homeostáticas ao estresse psicológico e que o estresse induzido pela ansiedade está relacionado a resposta Th1.

SALVI et al (1998) conduziram estudo que teve como propósito caracterizar a resposta inflamatória local e sistêmica em 2 grupos de pacientes com periodontite em estágio “terminal”. Foram incluídos no estudo 8 pacientes com periodontite do adulto severa (atualmente denominada crônica) e 8 pacientes com periodontite de aparecimento precoce “terminal”(hoje denominada agressiva). O propósito do estudo foi avaliar citocinas no fluido gengival (GCF), culturas de monócitos do sobrenadante estimulados por lipopolissacarídeo (LPS) e também RNA mensageiro (mRNA) de células mononucleares em biópsia gengivais. No GCF houve 3 níveis de mediadores baseados em 10 diferentes concentrações: o mais alto nível incluiu PGE₂, IL-1 β e IL-2, o nível intermediário incluiu TNF- α e IFN- γ e o nível mais baixo de concentração incluiu IL-4 e IL-6. A análise do GCF indicou claramente que em ambos os grupos de

pacientes, os níveis de mediadores inflamatórios monocíticos, ou seja, IL-1 β e PGE₂ e Th1 (IL-2 e IFN- γ) dominavam quantitativamente mediadores Th2 (IL-4 e IL-6). A liberação de IL-1 β , PGE₂ e TNF- α de monócitos estimulados por LPS esteve significativamente elevada em ambos os grupos com periodontite, comparados com um grupo controle em que os pacientes apresentavam periodontite do adulto de moderada para avançada. A expressão de mRNA para citocina de células mononucleares gengivais isoladas, mostrou que nos 2 grupos, citocinas Th1 e Th2 foram expressas com baixos níveis de IL-4 e IL-12. Os autores concluíram que a análise transversal do modelo de periodontite terminal pode refletir doença periodontal progressiva associada com perda óssea. Além disso, embora níveis de citocinas Th1 no fluido gengival tenha dominado a resposta Th2, ativação monocítica produziu a fonte principal de mediadores inflamatórios. Ainda, monócitos do sangue periférico, estimulados por LPS demonstraram um aumento na secreção de mediadores inflamatórios na dentição terminal.

Em 1999, KENT; RAHEMTULLA; MICHALEK compararam a produção de IL-6 constitutiva e induzida por fibroblastos gengivais humanos derivados de tecidos periodontais saudáveis e doentes. Também avaliaram se a IL-1 agiria de maneira sinérgica com LPS na indução da produção de IL-6 por fibroblastos gengivais humanos e se LPS agiria via CD14. Os fibroblastos de áreas saudáveis e doentes foram cultivados e se analisou a produção de IL-6 constitutiva por ELISA; também fibroblastos foram incubados com LPS de *P.G.* e *E. coli* e verificou-se IL-6 por ELISA. Os resultados mostraram que maiores quantidades de IL-6 foram produzidas por fibroblastos de tecidos doentes antes e após a estimulação em relação a fibroblastos de tecidos saudáveis. Pré-tratamento com IL-1 α seguido por estimulação com LPS em fibroblastos saudáveis e doentes resultou em um efeito adicional na produção de IL-6. Pré-tratamento com IL-1 α seguido de uma segunda incubação com o mesmo estimulante produziu quantidades maiores de IL-6 do que culturas incubadas apenas com LPS ou com IL-1 α . Quantidades semelhantes de mRNA para IL-6 estiveram presentes em fibroblastos não estimulados de tecidos saudáveis ou doentes e naqueles incubados somente com IL-1 α . Após incubação com IL-1 α e LPS, fibroblastos de tecido doente produziram pouco mais mRNA que fibroblastos de locais saudáveis. CD14 não foi expresso para fibroblastos saudáveis ou doentes mesmo após estimulação com LPS de *P. gingivalis* ou *E. coli*. Mensagem de CD14 também não foi detectável. Os autores concluíram que

houve heterogeneidade entre fibroblastos gengivais e um efeito aditivo na produção de IL-6 estimulado por IL-1 e LPS de *P. gingivalis*, mas esse efeito não foi mediado por CD14.

Ainda nesse ano, NARUISHI et al (1999) investigaram o papel da sIL-6R (forma solúvel de IL-6) na união da IL-6 na superfície celular de fibroblastos gengivais e os níveis de sIL-6R na periodontite crônica. Os resultados demonstraram que fibroblastos gengivais podem ser células alvo de IL-6 na presença de quantidades apropriadas de sIL-6R e essa situação pode existir durante a inflamação no tecido periodontal.

BOZKURT et al (2.000) estudaram os níveis de IL-6 no fluido gengival e compararam com condições clínicas periodontais em pacientes com Periodontite do Adulto(PA) e Artrite Reumatóide (AR). 45 pacientes foram incluídos no estudo e divididos em 3 grupos: 15 com PA e AR, 15 com PA e 15 periodontalmente saudáveis. Parâmetros periodontais foram registrados assim como níveis de IL-6. Os resultados mostraram que nenhuma diferença significativa pode ser detectada entre os grupos PA e AR na média dos parâmetros clínicos periodontais, exceto placa. Embora a média do nível de IL-6 do fluido no grupo AR tenha sido mais alta, nenhuma diferença significativa pode ser encontrada entre os grupos. Houve apenas uma forte correlação negativa entre níveis de IL-6 e escores de índice gengival no grupo AR. Os autores concluíram que nos pacientes com AR, a despeito do aumento potencial de destruição local devido a autoimunidade e maior nível de placa que nos pacientes com PA, as descobertas sugerem que medicamentos incluindo corticosteróide e drogas anti-inflamatórias não esteroidais podem diminuir a inflamação gengival, mas a síntese e degradação de IL-6 no tecido gengival de pacientes com AR pode ser diferente.

O papel do TGF- β na regulação da função celular imune foi investigado por LETTERIO em 2.000. Muitos membros da super-família TGF- β , incluindo activinas e BMPs, tem demonstrado afetar o desenvolvimento e função das células imunes. Na proliferação e diferenciação de células de origem pluripotentes, na ativação e migração de linhagens mielóide e linfóide madura, os TGF- β s tem sido reconhecidos pela capacidade em modular como tais células respondem aos estímulos em seu ambiente. Estudos “in vitro” identificaram a capacidade do TGF- β em regular a proliferação de

linfócitos ativados via controle da expressão IL-2 e receptor de IL-2, regular a produção de imunoglobulinas e afetar a diferenciação de células dentro das linhagens mielóides. TGF- β contribuem tanto na resposta imune inata quanto na adquirida.

Investigação “in vitro”, foi realizada por CHAMPAIBOON et al (2000) sobre a ativação de células imune por *P. gingivalis* em indivíduos saudáveis. Células mononucleares de sangue periférico (PBMC) ou um subconjunto de linfócitos purificados foram estimulados por extratos sonicados de *P. gingivalis* por 24 h. Células foram colhidas e monitoradas para expressão de CD69, e a produção de citocinas IL-10, IL-12 e IL-15 nas culturas de PBMC foram quantificadas. Os resultados mostraram que a cultura de PBMC com *P. gingivalis* produziram um grande número de células B ativadas e natural killer (NK) monitoradas pela expressão de CD69. A produção de citocinas reguladoras de células B em culturas de PBMC estimulada por *P. gingivalis* revelou uma grande quantidade de IL-10, mas IL-12 e IL-15 não foram detectadas; os maiores produtores foram monócitos e não células B ou T α β . Quando IL-10 foi adicionada às células B na presença de bactéria, a resposta proliferativa de células B aumentou significativamente. Os autores concluíram que *P. gingivalis* direta e indiretamente via macrófago (IL-10) pode ter um papel importante na ativação policlonal de células B associada com a doença periodontal.

Nova pesquisa de BREIVIK et al (2000) testou um modelo apresentado por BREIVIK et al em 1996, no qual a extensão da periodontite, como doença inflamatória, está em função da reatividade do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), de acordo com a resposta comportamental aos estressores. A idéia que o sistema nervoso e o sistema imune se intercomunicam está bem estabelecida. De um lado, citocinas, que são sintetizadas e liberadas por células imune durante a inflamação, ativam componentes específicos da resposta central ao estresse, principalmente o eixo HPA e por outro lado, corticosteróides, produtos finais do eixo HPA, afetam a resposta imune. Nesse contexto, um caminho é o eixo HPA: como um resultado do estresse, incluindo infecções, inflamações, assim como estresse emocional, neurônios do hipotálamo liberam o hormônio corticotrofina (CRF) que estimula a pituitária a secretar o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), que por sua vez resulta na liberação de glicocorticóides. Um segundo caminho é relativo à transição entre eixo HPA e sistema imune. Corticosteróides são capazes de mudar o equilíbrio entre diferentes tipos de células T

helper (Th) e assim modular a resposta imune. Dois sub-grupos de células Th podem ser identificados: células Th1 que estimulam a imunidade celular produzindo IFN- γ e IL-2, e células Th2 que promovem a diferenciação de células B e imunidade humoral com liberação de IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10. Uma terceira via sugere que uma resposta Th2 dominante aumenta a suscetibilidade às doenças infecciosas. Nessa pesquisa, dois tipos distintos de ratos quanto à genética, diferindo endocrinologicamente e quanto ao comportamento em relação ao estresse (animais com altos níveis de corticosteróide e animais com baixos níveis de corticosteróide) foram comparados, após indução de periodontite por ligadura. Os resultados mostraram que os animais com altos níveis de corticosteróide foram mais sensíveis à periodontite, com maior perda de inserção e óssea, sugerindo segundo os autores que fatores genéticos fundamentam a variação na reatividade do eixo HPA (e conseqüentemente a resposta comportamental em relação ao estresse) tendo um importante papel no desenvolvimento de doenças inflamatórias.

HERNÁNDEZ et al (2000) investigaram o papel de glicocorticóides e IL-6 na síntese de metalotioneína-I (MT-I) no fígado de camundongos, induzidos pelo estresse por contenção. Os resultados mostraram que o estresse aumentou os níveis de m-RNA para MT-I e MT-I+II no fígado e sugeriram que glicocorticóides são importantes para a síntese de MT-I+II, mas não para o acúmulo de mRNA para MT-I durante o estresse, e que outros fatores podem estar envolvidos nesse processo. Animais com deficiência de IL-6 mostraram significativo decréscimo dos níveis de mRNA para MT-I no fígado induzido pelo estresse, 4-5 h após seu início. Os resultados após extensos períodos de estresse indicaram que IL-6 participa precoce e transitoriamente no processo. A análise da expressão da proteína Amiloide A do plasma, na fase aguda, mostra uma resposta similar à causada pela inflamação.

Em 2001 HIROSE et al avaliaram a expressão de mRNA de citocinas inflamatórias, de quimiocinas, de citocinas anti-inflamatórias e óxido nítrico induzido (iNOS) em tecidos gengivais inflamados (utilizando RT-PCR) e avaliaram ainda a relação entre infecção por A.a. e P.g. em placa sub-gengival e os perfis de citocinas. Espécimes de tecido gengival e placa sub-gengival foram obtidos de 22 pacientes com periodontite do adulto. Os resultados mostraram que a expressão relativa de IL-6 e iNOS nas lesões periodontais foi significativamente maior que nos indivíduos saudáveis. A expressão de mRNA para IL-6 foi também significativamente mais alta nos sítios com

sangramento à sondagem positiva que nos sítios negativos. A expressão de IL-1 α e IL-8 aumentou, mas a expressão de IL-10 diminuiu nos sítios onde o A.a. foi detectado. Não houve correlação entre a expressão de citocinas e iNOS e infecção por P.g.. Os autores concluíram que a expressão de IL-6 pode refletir inflamação no tecido gengival, e iNOS pode estar envolvido com processo inflamatório na periodontite. A presença de A.a. e P.g. pode relacionar a diferentes perfis de citocinas de IL-1 α , IL-8 e IL-10.

Publicação de UCHIDA et al (2001) investigou a indução de citocinas por células epiteliais gengivais humanas após a exposição a *A. actinomycetemcomitans* (A.a.) em cultura, comparando com fibroblastos gengivais humanos. As análises mostraram que houve indução de mRNAs para IL-1 β e IL-8, mas não de IL-6 nas células epiteliais. Secreção de IL-8 pelas células epiteliais aumentou também pela exposição ao A.a. , enquanto a produção de IL-1 β não foi detectada. Os níveis de IL-8 e seu mRNA aumentaram dependendo da concentração de A.a.. A cultura contendo fibroblastos e A.a. resultou em aumento dos níveis de IL-6 e mRNA para IL-8 e não houve expressão de mRNA para IL-1 β . Esses dados demonstraram que células epiteliais e fibroblastos gengivais humanos estimulados com A.a. apresentaram diferentes perfis na expressão de mRNA para citocinas. Além disso, o A.a. pode ter um papel importante na amplificação da resposta imune local iniciando a reação inflamatória induzindo liberação de IL-8 por células epiteliais gengivais.

MENGEL; BACHER; FLORES-de-JACOBY em 2.002 quantificaram os níveis de IL-1 β , IL-6 e cortisol no sangue periférico de indivíduos com doença periodontal com objetivo de analisar interações com estresse psicossocial. O grupo teste compreendeu 16 pacientes (sem tratamento) e 14 pacientes (com tratamento) com periodontite agressiva generalizada, 5 pacientes (sem tratamento) com periodontite agressiva localizada e 5 pacientes com periodontie crônica generalizada, enquanto o grupo controle apresentou 40 indivíduos periodontalmente saudáveis. Sangue foi colhido da veia cefálica de todos os pacientes para a dosagem laboratorial (ELISA). Exame clínico periodontal registrou os parâmetros clássicos e um questionário foi usado para analisar os aspectos de vida, estresse induzido pelo trabalho e suas famílias. Os resultados mostraram que nenhuma diferença significativa nos níveis de cortisol ocorreu entre os grupos. A IL-1 β foi detectada somente nos pacientes com periodontite agressiva generalizada e seus controles, mas sem diferenças significantes. A IL-6 foi

detectada praticamente em todos os pacientes testes e controles, também sem diferenças significantes; somente nos pacientes com periodontite agressiva generalizada (sem tratamento) a IL-6 esteve significativamente elevada e uma pequena correlação com perda de inserção foi registrada. Em todos os pacientes com periodontite agressiva generalizada uma leve correlação ocorreu entre IL-1 β e IL-6. Análise do questionário revelou uma maior proporção de pacientes com periodontite agressiva sem tratamento que os pacientes controles em relação a uma atitude de vida pessimista. Em todos os pacientes com periodontite agressiva generalizada, o estresse induzido pela condição familiar e o tabagismo estiveram correlacionados com perda de inserção. Nos pacientes com periodontite agressiva generalizada sem tratamento, tabagismo correlacionou com IL-1 β e nos controles houve uma moderada correlação entre tabagismo e níveis de IL-6. Os autores concluíram que não houve correlação entre os mediadores imunológicos (IL-1 β , IL-6), o glicocorticóide (cortisol) e o estresse.

Estudo de CHANG et al (2002) analisou os efeitos de citocinas, de agentes farmacológicos (inibidor de síntese de proteínas e inibidor da proteína kinase C) e de patógenos periodontais predominantes (A.a. e P.g.) na produção de MMP (matriz de metaloproteinase) em cultura de fibroblastos de ligamento periodontal humano. Os resultados mostraram que A.a. e P.g. e IL-1 α podem elevar a secreção de MMP-2 e o TGF- β reduziu a produção de MMP-2 que foi elevada pela IL-1 pelos fibroblastos; os resultados indicaram que patógenos periodontais e citocinas inflamatórias desempenham um papel importante na destruição tecidual e desintegração da matriz extra-celular na doença periodontal.

Nesse mesmo ano, IRWIN et al (2002) investigaram os efeitos da IL-6 na atividade da matriz metaloproteinase (MMP-1) em culturas de fibroblastos gengivais, especificamente determinando o papel do sIL-6r na mediação dessas ações. Fibroblastos foram cultivados, aos quais foram adicionados LPS de *Escherichia coli* e várias combinações de IL-6 e seu receptor solúvel. Os resultados indicaram que apenas a adição de IL-6 às culturas em concentrações variando de 0 à 1,0 ng/ml não tiveram efeito significativo na expressão da MMP-1, entretanto a adição de IL-6 em combinação com seu receptor solúvel resultou em significância estatística dose-dependente na regulação da expressão da MMP-1. A combinação IL-6/sIL-6r também induziu um significativo aumento na atividade colagenolítica nas culturas. A IL-6 e sIL-6r isolados

ou em combinação não apresentaram efeito significativo na expressão do TIMP (tecido inibidor de MMP) ou no crescimento celular. Os autores concluíram que os dados direcionam fortemente para que estudos clínicos futuros investiguem o papel da IL-6 na doença periodontal, e devem também determinar os níveis de sIL-6r nos tecidos periodontais.

Artigo publicado por McCAULEY; NOHUTCU (2002) discutiu aspectos relativos aos mediadores da destruição óssea periodontal. Muitas citocinas tem sido identificadas como mediadoras da reabsorção óssea e não é surpreendente que elas sejam também encontradas como mediadoras na doença periodontal. Estudos clássicos identificaram um fator ativador de osteoclastos (OAF) que era produzido em resposta à bactéria da placa. Esse OAF mais tarde foi constatado ser IL-1, um dos mais potentes agentes de reabsorção óssea. A IL-1 é secretada sob 2 formas moleculares (α e β) por uma variedade de células incluindo macrófagos, células B, neutrófilos, fibroblastos e células epiteliais e estão envolvidas no processo pró-inflamatório, degradação de matriz e processo de cicatrização. Devido ao fato dessa citocina apresentar forte relação com reabsorção óssea, ela tem recebido considerável atenção como uma citocina inflamatória com potencial de marcador para perda óssea ativa. A IL-1 tem também recebido especial atenção devido a uma alta porcentagem da população apresentar polimorfismo genético para essa citocina que resulta em aumento dos níveis da carga bacteriana. Esse aumento tem sido associado com aumento da severidade da doença periodontal. A IL-6 é também uma citocina inflamatória com atividade similar na estimulação da reabsorção óssea e tem sido implicada a muitos estados de doença associada com remodelação óssea acelerada. Citocinas, especificamente IL-1 α , IL-1 β , IL-6 e TNF- α tem sido encontradas no fluido gengival em relação a progressão da destruição periodontal. A IL-1 β tem também efeito sinérgico com outra potente molécula de reabsorção óssea tal como TNF- α ou linfotoxina. Níveis elevados de IL-1 β e IL-6 estão associados com patógenos periodontais como *Eikenella corrodens* e *Prevotella intermédia* e contínua perda de inserção e perda óssea alveolar em sítios ativos. Isso sugere que essas citocinas possam predizer e serem associadas com perda de inserção progressiva.

No ano de 2.003, GIANNOPOULOU; KAMMA ; MOMBELLI determinaram os níveis de IL-1 β , IL-4, IL-6 e IL-8 no fluido gengival de indivíduos periodontalmente

saudáveis e indivíduos doentes e sua associação com tabagismo, estresse e parâmetros clínicos periodontais. Oitenta pacientes foram incluídos no estudo: 20 com periodontite precoce ou agressiva, 20 com periodontite do adulto crônica, 20 com gengivite e 20 saudáveis. Os resultados mostraram que nos indivíduos periodontalmente doentes, IL-1 β , IL-6 e IL-8 estavam significativamente aumentadas comparado com os pacientes saudáveis, enquanto IL-4 mostrou uma relação inversa com a condição periodontal e mais altas quantidades foram encontradas nos indivíduos saudáveis. A quantidade de todas as citocinas estiveram positivamente correlacionadas com a profundidade de sondagem; IL-4, IL-6 e IL-8 estiveram significativamente correlacionadas com tabagismo, enquanto estresse esteve associado com IL-1 β , IL-6 e IL-8. Concluiu-se que IL-1 β , IL-6 e IL-8 sulcular, refletem atividade destrutiva periodontal, enquanto IL-4 mostra correlação inversa; o aumento de citocinas inflamatórias na presença de tabagismo e estresse pode ter consequências clínicas.

A quantificação da fração da área (AA%) em gengiva humana saudável e doente ocupada por fibras colágenas e a quantidade de citocinas IL-1 β , IL-4, IL-6, TGF- β , TNF- α e EGF (fator de crescimento epidermal) foram realizadas por EJEIL et al (2003) com o objetivo de investigar a possível correlação entre as citocinas, degradação colágena e índice gengival. Espécimes gengivais foram obtidos de pacientes com periodontite crônica. Os grupos estudados foram assim compostos: 6 indivíduos controles, com gengiva normal (G1), 6 indivíduos com inflamação gengival branda (G2), 6 indivíduos com inflamação gengival moderada (G3) e 6 indivíduos com inflamação gengival severa (G4). Os resultados revelaram significantes diferenças entre a média da AA% no grupo 1, grupo 2, grupo 3 e grupo 4 para fibras colágenas. Comparado ao controle, não houve significativo aumento de IL-1 β (G3 e G4), IL-6 e TNF- α (G3); um significativo decréscimo ocorreu de IL-4 (G 2, 3 e 4) e TGF- β (G2 e 3) e nenhuma mudança ocorreu no EGF. A AA% de colágeno esteve significativamente correlacionada com a quantidade de IL-4 e TGF- β e também significativa mas inversamente correlacionada com a quantidade de IL-1 β para os 3 grupos inflamados, e IL-6 e TNF- α para G 2 e 3. Os autores concluíram que EGF não mostrou mudanças nos tecidos gengivais inflamados e que IL-1 β e IL-4 estiveram particularmente e intensamente correlacionadas com perda de colágeno e essas 2 citocinas podem ser marcadores de severidade clínica no decurso da periodontite ativa.

SUTHERLAND; ALEXANDER; HUTCHISON (2003) investigaram a relação entre psicopatologia pós-traumática (PTP) e marcadores pró-inflamatórios da resposta metabólica ao trauma. Oitenta e dois pacientes com lesões músculo-esqueléticas correlacionando o desenvolvimento de psicopatologia (medida por um questionário de saúde geral) e marcadores pró-inflamatórios [proteína C reativa (CRP), IL-6, receptor solúvel para IL-6 (sIL-6r), TNF- α], 2 e 6 meses após o traumatismo, foram incluídos no estudo. Os resultados mostraram que distúrbios psicológicos foram encontrados em 39% dos pacientes na análise de 2 meses e 18% aos 6 meses. Esses distúrbios foram associados com aumentos significantes dos níveis de IL-6 no exame realizado após 2 meses da lesão e sIL-6r e TNF- α aos 6 meses. Os níveis de CRP não estiveram relacionados com o desenvolvimento do PTP. Os autores concluíram que a relação entre PTP e distúrbios de marcadores pró-inflamatórios necessita novas investigações, mas pode explicar em parte a debilidade na recuperação funcional.

Ainda em 2.003, CHEN; WAHL discutiram o TGF- β como um possível meio de mediação da imunossupressão mediada por células T, regulando CD4⁺ e CD25⁺. A única população de linfócito T CD4⁺ que constitutivamente expressa CD25 tem sido reconhecida como células anérgicas/supressoras. Enquanto a atividade imunossupressora das células CD4⁺CD25⁺ tem sido validada e implicada em tolerância, autoimunidade, transplantes, câncer e doenças infecciosas, os mecanismos pelos quais elas agem permanece controverso. Embora o envolvimento do TGF- β foi inicialmente desconsiderado, novas evidências ligam essa citocina com células T CD4⁺CD25⁺ mediando supressão de antígenos ativados por células T. A membrana das células unidas com TGF- β podem promover liberação de sinais reguladores para células alvo. A função supressora da célula T é um complexo processo, regulada por múltiplos fatores, incluindo IL-2, antígeno-4 associado a linfócito T citotóxico (CTLA-4) e glicocorticóide induzido por receptor TNF (GITR).

Artigo de revisão publicado por KIM; MAES (2003) analisou a influência do estresse psicológico agudo e crônico no conjunto de citocinas, explorando as implicações pato-fisiológicas das mudanças das citocinas no estresse psicológico. Estresse psicológico agudo pode promover aumento das citocinas pró-inflamatórias em animais e humanos e aumentar citocinas de células Th1 em humanos. Investigações dos efeitos do estresse psicológico crônico na produção de citocinas em animais mostram

resultados diversos, entretanto, em humanos, parece induzir uma alteração no balanço de citocinas Th1/Th2 para resposta Th2 e aumento de citocinas pró-inflamatórias. As citocinas induzidas pelo estresse psicológico estimulam a atividade da indoleamina 2,3 dioxigenase (IDO) e pode induzir a depleção de serotonina relacionada à desordens como a depressão em indivíduos suscetíveis. A produção de citocinas induzidas pelo estresse psicológico pode aumentar o risco de doenças em humanos, tais como doença cardiovascular e exacerbação de doenças autoimunes. Citocinas pró-inflamatórias podem também ter um papel regulador na resistência à glicocorticóide e podem estar envolvidas no processo de cicatrização e alterações funcionais na pele. Também a produção de citocinas induzidas pelo estresse psicológico pode ter um papel nas mudanças neurodegenerativas no cérebro.

Publicação de LOZOVAYA & MILLER em 2003, teve como propósito apresentar uma visão molecular dos processos envolvidos entre estresse e doença (ligando hormônios do estresse à degeneração e à doença), pela comunicação bi-direcional entre sistemas imune e sistema límbico-hipotalâmico-pituitária-adrenal (LHPA). A neuroendocrinoimunologia ou neuroimunologia química envolve mensagens/mediadores químicos. O eixo LHPA é a mais importante “super-via de informação” ligando o sistema nervoso central (SNC) à periferia, e representa o meio primário pelo qual o cérebro recebe informação emocional, psicológica e sensorial produzida por estresse e estressores, e retransmite as instruções na forma de mensagens químicas. A excitação do eixo LHPA faz com que neurônios secretores do hipotálamo liberem o hormônio corticotrofina (CRH) na circulação hipofiseal, e a hipófise libera o hormônio adrenocorticotrofina (ACTH) na circulação. O processo se completa quando o ACTH se liga a receptores na córtex adrenal, e esta liberando glicocorticoides tal como o cortisol. Pesquisas tem mostrado convincentemente que citocinas pró-inflamatórias tais como IL-1, IL-6 e TNF- α mediam a comunicação bi-direcional entre os sistemas imune/inflamatório e LHPA. A amplitude e a profundidade desses comunicações está longe de ser completamente compreendida, mas a disfunção do eixo LHPA causada por estímulo de estresse agudo intenso ou estresse crônico, pode ter conseqüências significantes na função do sistema imune. O potencial dessas sinergias torna mais significativo pelo fato do estresse físico e psicológico aumentarem a produção periférica de citocinas, sugerindo uma ligação direta do eixo LHPA com o sistema imune periférico. Dados sugerem que uma ligação também exista entre o estímulo do estresse e

o controle do eixo LHPA pela atividade local imune do SNC, pois todos os tipos de células gliais e neurônios tem capacidade de produzir citocinas; assim o estímulo do estresse parece ser capaz de induzir efetivamente a produção local de citocinas pró-inflamatórias no SNC que poderia cooperar com uma elevação na capacidade de produção de citocinas na periferia pelo estímulo do eixo LHPA.

Em 2004, JENKINS; JAVADI; BORGHAEI determinaram os efeitos da IL-4 sobre a expressão de MMP-3 induzida por IL-1 em fibroblastos gengivais humanos isolados de pacientes com periodontite. As análises revelaram que a co-incubação de fibroblastos gengivais em IL-1 e IL-4 resultou em um significativo decréscimo dos níveis de mRNA para MMP-3 comparado com IL-1 isoladamente. Essa inibição foi dose dependente e apareceu 3h após a estimulação. A produção de PGE₂ induzida por IL-1 não foi afetada em 4 de 6 culturas de diferentes indivíduos. Adição exógena de PGE₂ não teve efeito na capacidade supressiva da IL-4. Os autores concluíram que IL-4 inibe a indução de MMP-3 por IL-1 de fibroblastos gengivais humanos de pacientes com periodontite; e ainda esse efeito é independente da PGE₂ e não é devido a inibição de DNA ligado a atividade de fatores de transcrição conhecidos na promoção de MMP3.

Pesquisa de KAMMA et al (2004) analisou a influência do cigarro nos níveis de IL-1 β , IL-4, IL-6 e IL-8 do fluido sulcular em pacientes com periodontite agressiva ou precoce e em pacientes controles saudáveis, sendo o estresse psicossocial um fator modificador. Foram incluídos no estudo 65 pacientes com doença periodontal e 35 indivíduos sem doença. Avaliou-se hábitos de tabagismo, estresse, índice de placa, índice de sangramento gengival, profundidade de sondagem e nível de inserção. Todos os parâmetros clínicos foram significativamente mais elevados nos pacientes com doença; não houve diferenças significantes entre fumantes doentes e saudáveis periodontalmente, quanto à placa, nível clínico de inserção e profundidade de sondagem, enquanto que nível de inserção e profundidade de sondagem em sítios doentes foram maiores nos indivíduos fumantes que nos não fumantes. Ainda, fumantes com doença periodontal pareceram ter significativamente menos sangramento e maior perda óssea comparado com indivíduos com doença, mas não fumantes. Significantes interações ocorreram entre pacientes com doença periodontal e tabagismo quanto ao total de IL-1 β e IL-4; a IL-1 β , IL-6 e IL-8 mostraram significantes em pacientes fumantes sem doença e não fumantes sem doença respectivamente. Para a IL-8, o

estresse apresentou significativa interação com a condição fumante e doença periodontal; mais especificamente os pacientes com doença periodontal fumantes foram estatisticamente afetados pelo estresse.

SUÁREZ et al (2004) compararam sub-populações de células T ($CD3^+$, $CD4^+$ e $CD8^+$) caracterizando mRNA de citocinas envolvidas na resposta imune adaptativa em um grupo de pacientes com saúde periodontal ou gengivite grau 1 (HI/G1-10 pacientes) e outro grupo com periodontite agressiva (AgP-10 pacientes). A presença de IL-2, IFN- γ , IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 e TGF- β foi mensurada por RT-PCR de mRNA extraído de biópsias gengivais. Os resultados mostraram diferenças significantes em $CD3^+$ e $CD4^+$ entre os grupos. Os parâmetros foram mais baixos nas biópsias dos pacientes com periodontite agressiva, enquanto a quantidade de $CD8^+$ esteve similar em ambos os grupos. Houve constante expressão de IL-2 e IFN- γ em todos os casos. A IL-5 e IL-10 estiveram presentes na maioria dos casos de HI/G1, mas não no grupo AgP. A IL-13 e TGF- β foram somente detectadas em HI/G1 e a IL-4 não foi encontrada em nenhum dos indivíduos. Segundo os autores os dados indicaram que o papel da sub-população $CD8^+$ nas lesões de AgP é limitado, enquanto que significativa redução de $CD4^+$ poderia ter importante função na imunopatogênese do tipo de doença; por outro lado IL-2 e IFN- γ podem não ser relevantes na progressão da AgP, mas a perda de regulação mediada por IL-5 e IL-10 poderia estar envolvida na degeneração das estruturas periodontais.

Com o propósito de abordar o perfil de citocinas Th1/Th2 no controle imuno-regulador na doença periodontal, um artigo foi publicado por GEMMELL; SEYMOUR (2004). Embora muitas controvérsias ainda existam a respeito desses perfis, o fato da lesão periodontal estável ser idêntica à reação de hipersensibilidade do tipo tardia, enquanto a lesão progressiva envolve grande número de células B e plasmócitos, sugere fortemente que a lesão estável é mediada por células Th1 e a lesão progressiva por células Th2. O controle da expressão de Th1 e/ou Th2 é fundamental na compreensão dos mecanismos imuno-reguladores na periodontite crônica. Nesse contexto, alta afinidade de receptores para célula T (TCR) parece estar ligada a resposta Th1, enquanto baixa afinidade TCR tende para resposta Th2. Outros mecanismos que podem controlar os perfis Th1/Th2 incluem a natureza do antígeno, apresentação do antígeno e a resposta imune inata. A progressão da doença é devido a combinação de fatores incluindo a presença de bactérias periodontopáticas, altos níveis de citocinas pró-

inflamatórias, metaloproteinases e PGE₂ e baixos níveis de citocinas inibidoras de inflamação, incluindo IL-10, TGF- β e inibidores teciduais de metaloproteinases. Em alguns indivíduos neutrófilos e células mediadoras da imunidade limitam a extensão da perda de inserção, entretanto na população suscetível determinada por fatores ambientais e genéticos, presença de bactérias periodontopáticas como *P. gingivalis*, *A.a.* ou *Tannerella forsythia*, pode limitar a liberação de neutrófilos e a progressão da doença pode ocorrer. A resposta imune adaptativa está sob controle de células T que regulam a diferenciação de células B / plasmócitos e produção de anticorpos. O desenvolvimento e regulação de uma resposta imune depende de uma grande produção local de um número de citocinas que podem determinar se a resposta será protetora ou não protetora. A resposta imune à infecção é regulada pelo balanço entre citocinas Th1 e Th2. O efeito de citocinas Th1 (IL-2 e IFN- γ) é elevar as respostas mediadas por células, enquanto que para as citocinas Th2 (IL-4) é suprimir respostas mediadas por células e então elevar a resistência associada com imunidade humoral. É evidente que ambas, células T e B estão presentes em tecidos periodontais doentes, e mostram estágio mais avançado do ciclo celular do que células T e B do sangue periférico, indicando ativação dentro dos tecidos ou seletivo extravasamento de células ativadas. O infiltrado na lesão periodontal consiste de linfócitos e macrófagos e tem sido hipotetizado que linfócitos T predominam na lesão estável, enquanto a proporção de células B e plasmócitos estão aumentados na lesão progressiva. Isso tem sugerido que células T com perfil de citocinas Th1 podem ser os maiores mediadores na lesão precoce estável. A produção de IFN- γ pode elevar a atividade fagocítica de neutrófilos e macrófagos e então conter a infecção. Entretanto a lesão persiste devido à formação contínua de biofilme. A dominância de células B / plasmócitos na lesão avançada / progressiva pode sugerir um papel para células Th2. Se a resposta inata é pobre, baixos níveis de IL-12 podem ser produzidos e uma pobre resposta Th1 pode ocorrer, o que poderia não conter a infecção. A estimulação de mastócitos e subsequentemente a produção de IL-4 pode estimular a resposta Th2, ativação de células B e produção de anticorpos. Se esses anticorpos são protetores e eliminam a infecção, a doença não progride, mas se não são protetores a lesão persiste e a ativação contínua de células B pode resultar em grande quantidade de IL-1 e destruição tecidual. Muitos estudos tem analisado o perfil Th1/Th2 na doença periodontal. Diminuição de citocinas Th1 no fluido gengival e células mononucleares gengivais de sítios periodontais, células mononucleares de sangue periférico de pacientes com periodontites tem sido demonstrado. Aumento de resposta

Th2 em periodontites tem sido relatado em estudos com sangue periférico, tecido gengival, fluido gengival.

Publicação de MOSER et al (2004) discutiu aspectos importantes das quimiocinas no controle da migração de leucócitos. As quimiocinas são muito variáveis, tanto em termos de proteínas individuais quanto sua produção no sangue e células nos tecidos. Inicialmente elas foram agrupadas dentro de sub-famílias denominadas quimiocinas inflamatórias e quimiocinas homeostáticas. As quimiocinas inflamatórias controlam o recrutamento de leucócitos efetores na infecção, inflamação, tecidos lesados e tumores. Muitas quimiocinas inflamatórias tem alta seletividade sobre células alvo e agem sobre células tanto do sistema imune inato quanto do adaptativo. Quimiocinas homeostáticas, diferentemente, navegam com leucócitos durante a hematopoiese na medula óssea e timo, durante o início da resposta adaptativa no baço, em nódulos linfáticos e placas de Peyer para o reconhecimento imune dos tecidos periféricos saudáveis. Recentes descobertas, entretanto, indicam que muitas quimiocinas podem não ser enquadradas apenas como inflamatórias ou homeostáticas, mas apresentar ambas as funções e serem denominadas quimiocinas de dupla função. Muitas quimiocinas de dupla função são altamente seletivas para linfócitos e tem papel no desenvolvimento de células T no timo, assim como o recrutamento de células T em locais inflamados. A quimiocina CXCL8 (IL-8) é caracterizada como uma quimiocina inflamatória. A CXCL8 (IL-8) pode ser estimulada por diversos fatores, como citocinas (IL-4, IL-13, IL-15, IL-17), co-estimuladores (H_2O_2 , radicais oxigênio, eosinófilo MBP, ligantes PAR, Fas, complexos imunes, fibrina, fibrinogênio, complemento), estresse (HSP humano, UVB) e patógenos (componentes da parede celular, flagelina, fMLP). Por sua vez, a CXCL8 dependendo do estímulo pode agir em células endoteliais, células epiteliais, fibroblastos, monócitos e células teciduais, condrócitos, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, células T, ceratinócitos, mastócitos e plaquetas.

Discussão de TAYLOR; PRESRAW; DONALDSON (2004) focou aspectos sobre o polimorfismo genético para citocinas e a imuno-regulação na doença periodontal. Muitos estudos demonstram variação inter-pessoal na produção de citocinas por células mononucleares do sangue periférico. Muitos parâmetros influenciam os níveis de secreção de citocinas, incluindo o tipo celular (“in vitro”), natureza do estímulo e condição genética para a fonte de células. Muitos estudos

ênfatizam a natureza multifatorial na regulação das citocinas. Além disso, células de indivíduos com doenças imune-mediadas frequentemente exibem diferentes perfis de secreção de citocinas comparados com controles saudáveis, e isso pode ser explicado pelas diferenças genéticas entre indivíduos afetados e não afetados. Isso sugere que a suscetibilidade à doença periodontal pode relacionar diferenças individuais na secreção de citocinas; observações tem sido feitas apoiando a hipótese que um fenótipo hiper-inflamatório em certos indivíduos conta muito para a suscetibilidade à condição inflamatória crônica tal como a periodontite, e possivelmente participa na suscetibilidade de certas condições sistêmicas tais como doenças cardio-vasculares e diabetes.

Em 2005, HAVEMOSE-POULSEN et al investigaram se o perfil de citocinas em pacientes com periodontite agressiva, artrite idiopática juvenil ou artrite reumatóide diferiam de indivíduos livres dessas doenças. No estudo foram incluídos 18 indivíduos com periodontite agressiva localizada, 27 com periodontite agressiva generalizada, 10 com artrite juvenil, 23 com artrite reumatóide e 25 indivíduos normais, nos quais investigou-se os níveis de IL-1 α , IL-1 β , receptor antagonista de IL-1 (IL-1Ra), IL-6, IL-10, TNF- α e linfotóxina (LT- α) no plasma de sangue periférico; também culturas de células, estimuladas e não estimuladas, foram realizadas do mesmo sangue colhido. Auto-anticorpos (aAb) para IL-1 α e IL-6 foram quantificados. Os resultados mostraram padrões similares de níveis de IL-10, sendo levemente mais altos no plasma para pacientes com periodontite agressiva generalizada e artrite reumatóide e em culturas estimuladas para pacientes com periodontite agressiva generalizada, artrite reumatóide e artrite juvenil. Culturas não estimuladas também demonstraram padrões similares com mais altos níveis de TNF- α para esses 3 grupos de pacientes doentes. Padrões similares para os grupos com periodontite agressiva (localizada e generalizada) incluíram aumento de IL-1Ra em culturas estimuladas e padrões similares também ocorreram para os grupos com artrites em relação a mais altos níveis de IL-1 α e mais baixos níveis de LT- α . Mais baixos níveis de aAb para IL-1 α e IL-6 foram encontrados em quase todos os indivíduos. Os autores concluíram que periodontites agressivas e os tipos de artrite apresentam perfis de citocinas distintos de indivíduos livres dessas doenças. Embora os dados de amostras de sangue não necessariamente reflitam processo patogênico, essas descobertas podem servir com um primeiro passo no esclarecimento de padrões inflamatórios localizados e generalizados.

Discussão de SÁNCHEZ-CAPELO (2005) abordou papel do TGF- β 1 no processo de apoptose. A exposição de células ao TGF- β 1 pode provocar uma variedade de respostas incluindo a inibição do crescimento, migração e diferenciação celular e apoptose. A apoptose regulada pelo TGF- β 1 é dependente do contexto e tipo celular, sendo que TGF- β 1 produz sinais para sobrevivência celular ou apoptose. Os mecanismos moleculares que fundamentam o papel do TGF- β 1 na apoptose permanecem obscuros. As proteínas que primariamente mediam a sinalização intra-celular do TGF- β 1 são membros da família Smad. A sinalização do TGF- β 1 pode também cooperar na direção de receptor apoptótico (Fas e TNF), com moduladores de apoptose intracelular (JNK, p38MAP kinase, Akt, NF- κ B) e com apoptose mitocondrial mediada por membros da família Bcl-2. Além disso, o envolvimento do TGF- β 1 na produção do estresse oxidativo e na prevenção do processo inflamatório requerido para o curso da apoptose é uma evidência adicional dessa integração dentro do processo apoptótico. A interação e o balanço entre diferentes estímulos fornece base para a condição pró ou anti- apoptose do TGF- β 1 em uma determinada célula.

Ainda em 2.005 LIN et al investigaram se oncostatin M (OSM), um membro da família da IL-6, estava presente no fluido gengival e analisaram a correlação dos níveis de IL-6 e OSM com a severidade da periodontite. Sessenta e dois sítios de 14 pacientes foram divididos em 4 grupos de acordo com PS e sangramento à sondagem. Fluido gengival foi colhido usando fitas de papel de sítios clinicamente saudáveis, sítios com doença branda, sítios com doença moderada e sítios com doença severa. Os resultados mostraram que OSM e IL-6 foram detectados na maioria das coletas de fluido; a quantidade total de OSM e IL-6 correlacionou positivamente de forma significativa com a severidade dos sítios doentes. Nenhuma correlação da concentração de OSM ou IL-6 no fluido gengival foi verificada com a severidade da doença. Os níveis de OSM e IL-6 no fluido correlacionaram positivamente entre si quando expressos em concentração ou quantidade total. Os autores concluíram que IL-6 e OSM podem desempenhar um papel na modulação na cascata inflamatória da periodontite crônica.

Em 2.006, BOZKURT et al pesquisaram os níveis de IL-4 e IL-10 (ELISA) no fluido gengival de indivíduos com artrite reumatóide (RA) e periodontite crônica (CP). Dezesete pacientes com CP, 17 com RA e 17 indivíduos saudáveis (controles - HC)

foram incluídos no estudo. O grupo RA foi dividido em 2 sub-grupos de acordo com a profundidade de sondagem [$\leq 3\text{mm(a)}$ e $> 3\text{mm(b)}$], sendo que os parâmetros clínicos foram registrados. Os resultados mostraram que os níveis de IL-4 nos pacientes com RA (a e b) e sujeitos com CP, foram significativamente mais baixos comparados com o grupo HC. A média do nível de IL-4 em RA-b foi significativamente mais alta que o grupo com CP. A média do nível de IL-10 no grupo HC foi maior que nos grupos com patologia (RA e CP). No sub-grupo RA-a mais alto nível de IL-10- foi encontrado comparado com pacientes com CP. Os autores concluíram que a iniciação e a progressão da inflamação periodontal pode ser devido a uma falta ou inapropriada resposta de citocinas anti-inflamatórias em ambos, periodontite crônica e artrite reumatóide.

Artigo de revisão de MITSUYAMA; SATA; ROSE-JOHN (2006) abordou os aspectos de implicação da IL-6 como trans-sinalizadora para doenças inflamatórias intestinais- IBD (ex; doença de Crohn, colite). A patogenia dessas doenças é complexa, envolvendo uma vasta série de moléculas, incluindo citocinas. Recentes investigações apóiam a importância do papel da IL-6 na sinalização do desenvolvimento da IBD, entretanto os mecanismos moleculares desse desenvolvimento permanece parcialmente desconhecido. Os níveis de IL-6 na circulação e no intestino assim como receptor solúvel de IL-6 (sIL-6R) estão aumentados em pacientes com IBD. É notável que células T da mucosa de pacientes com IBD são extremamente resistentes a apoptose. As evidências suportam fortemente a hipótese que o desenvolvimento e a perpetuação da IBD depende do aumento da formação do complexo IL-6/sIL-6R interagindo com a membrana das células T via trans-sinalização.

BABEL et al (2006) analisaram TNF- α , TGF- β , IL-10, IL-6 e IFN- γ em polimorfismo genético em pacientes com periodontite crônica. Um total de 236 adultos foram incluídos no estudo, sendo genotipados por PCR com primers específicos. Os resultados mostraram que o número de indivíduos portadores de genótipo -174IL-6 CC foi significativamente mais alto no grupo de pacientes com periodontite crônica do que no grupo controle. O genótipo TGF- β 1 (codon 25) GG foi detectado mais freqüentemente em sujeitos controles do que nos indivíduos com periodontite. Os resultados sustentam a idéia que polimorfismos de nucleotídeo individual determinam

variações na capacidade de secreção de TGF- β 1 e IL-6 e podem ter um papel na suscetibilidade e desenvolvimento da periodontite crônica.

Investigação de SUMER et al em 2007, verificou a associação entre polimorfismos genético para IL-10 e periodontite crônica severa generalizada na população turca. Coleta de sangue venoso e DNA foram obtidos de 75 pacientes com doença periodontal e 73 pacientes saudáveis periodontalmente. A sequência genética nas posições -597 e -824 foram amplificadas por PCR. Os resultados mostraram que houve diferença estatisticamente significativa na frequência dos genótipos na posição -597 entre pacientes com e sem doença periodontal, enquanto que na posição -824 não houve diferença significativa entre os grupos. Concluiu-se que polimorfismo genético para IL-10 na posição -597 parece estar relacionado com periodontite crônica severa generalizada.

Revisão de CORREA et al (2007) abordou aspectos da relação citocinas-rede neuroendocrina-imune. Citocinas são produzidas rapidamente por células imune em resposta a injúrias teciduais, infecção ou inflamação. A superprodução de citocinas media o dano tecidual, e mecanismos fisiológicos e moleculares são envolvidos no controle dessa produção para prevenir injúrias durante a resposta do hospedeiro. Ainda, para regular as interações celulares, as citocinas são moléculas que sinalizam ao cérebro para responder ao risco de viroses, bactérias, fungos e parasitas através de uma elaborada coordenação. Isso resulta em reação inflamatória sistêmica na estimulação de 4 aspectos necessários para a proteção na presença de corpo estranho: fase da resposta aguda, síndrome da doença, dor e resposta ao estresse, mediados pelo eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) e o sistema nervoso simpático (SNS). Por outro lado o estresse pode ser definido como um estado de ameaça à homeostasia provocado por estímulos internos ou externos que ativam o eixo HPA e SNS resultando em mudanças fisiológicas ou adaptação. Centros corticais do cérebro retransmitem impulsos do sistema límbico que resultam na liberação de mediadores químicos incluindo norepinefrina, serotonina e acetilcolina que ativam neurônios do hipotálamo e essas células produzem corticotrofina que coordena a maioria das respostas ao estresse. A maioria dos hormônios do estresse inibem sistemicamente IL-12, TNF- α e IFN- γ , mas aumentam a produção de IL-10, IL-4 e TGF- β ; assim durante a resposta imune e inflamatória, a ativação do sistema do estresse, induzindo Th2, pode proteger o

organismo da produção excessiva sistêmica de citocinas inflamatórias Th1. Apesar da controvérsia sobre a entrada de citocinas no cérebro, múltiplos estudos de proteínas e expressão de mRNA tem indicado que muitas citocinas são constitutivamente expressas dentro do cérebro, incluindo o hipotálamo e são induzidos durante a inflamação. Há ampla evidência da expressão constitutiva de várias citocinas Th1 e Th2 tais como IFN- γ e IL-4 e também seus receptores funcionais ativos no cérebro de adultos normais.

No ano de 2.008, PRADEEP; ROOPA; SWATI avaliaram a relação entre parâmetros clínicos e concentrações de IL-4 no fluido gengival de gengiva inflamada e sítios com periodontite, antes e posteriormente após o tratamento periodontal. Sessenta pacientes foram divididos em 3 grupos, baseados no índice gengival, profundidade de sondagem e nível de inserção: G1-saudável, G2- gengivite e G3- periodontite crônica. Um 4º grupo consistiu de 20 pacientes do grupo 3, 6-8 semanas após o tratamento periodontal (raspagem). Os resultados mostraram que a mais alta média de concentração de IL-4 ocorreu no G1 e a mais baixa no G3. A média da concentração de IL-4 nos grupo G2 e G4 estiveram intermediariamente entre os níveis dos pacientes saudáveis e os com periodontite crônica. Os níveis de IL-4 decresceram do periodonto saudável para o doente e isso sugere que citocina Th2, representada pela IL-4, está associada com remissão ou melhora na doença periodontal.

Artigo publicado por GRAVES (2008) focou os aspectos osteoimunológicos que afetam as doenças periodontais, considerando as citocinas, quimiocinas e mediadores de células imune. Segundo o autor, a patogênese da doença periodontal é um processo inflamatório que envolve respostas imunes inatas e adaptativas. A doença periodontal é caracterizada pela destruição de tecidos moles do hospedeiro causada pela produção induzida e ativação de enzimas líticas e estimulação de osteoclastogênese. Embora seja amplamente aceito que a doença periodontal é crônica, a natureza da cronicidade não tem sido estabelecida. É duvidoso se a D.P. é um processo contínuo ou consiste de episódios de exacerbação e remissão, e caso haja o período de exacerbação, sua duração é desconhecida. Há uma relação estabelecida entre reabsorção óssea periodontal e bactéria, e o processo inflamatório é caracterizado por infiltração de leucócitos, que limitam o nível de invasão bacteriana. Existem muitos fatores que promovem o recrutamento de leucócitos, incluindo produtos bacterianos, citocinas, interação entre resposta imune inata e adaptativa, quimiocinas, mediadores lipídicos e complemento. A

formação de osteoclastos é estimulada por fatores secretados (citocinas) por células inflamatórias do infiltrado, que estimulam a reabsorção óssea. O papel do hospedeiro na perda óssea periodontal é complexo. Há evidência que a resposta deficiente do hospedeiro aumenta a destruição periodontal, e da mesma forma, evidência que também uma resposta vigorosa conduz à D.P.. A primeira evidência conclusiva que a resposta do hospedeiro tem papel importante na D.P. foi mostrada quando tratamento com inibidor de prostaglandina reduziu a quantidade de perda óssea, e a evidência que as citocinas tinham papel crítico foi mostrado em modelos animais. De um lado, as quimiocinas são uma grande família de citocinas quimiotáticas que estimulam o recrutamento de células inflamatórias; são produzidas por vários tipos de células do periodonto, tais como fibroblastos, células endoteliais, macrófagos, osteoclastos, células epiteliais, leucócitos polimorfonucleares, monócitos, linfócitos e mastócitos. As quimiocinas são divididas em 2 grandes famílias baseadas na estrutura do ligante; elas são denominadas como quimiocinas CC e CXC e seus receptores CCR e CXCR respectivamente. Muitas quimiocinas contribuem para a inflamação induzindo reabsorção óssea, pois elas podem estimular uma ou mais etapas da reabsorção, incluindo o recrutamento, diferenciação ou fusão das células precursoras na formação de osteoclastos ou aumentando a sobrevivência dos osteoclastos. As quimiocinas podem também afetar a perda óssea periodontal pelo seu papel no recrutamento de células, tal como neutrófilos, que protegem contra a invasão bacteriana. Por outro lado, estudos em modelos humanos e animais mostram forte evidência do papel de citocinas como a IL-1 mediando perda óssea estimulada por patógenos periodontais. Em humanos a expressão de IL-1 β apresenta-se elevada no fluido gengival de sítios com perda recente de osso e de inserção, em pacientes com D.P.. A IL-6 e a IL-11 são citocinas parecidas, mas parecem ter funções diferentes na perda óssea periodontal. Em resposta à *P. gingivalis*, em camundongos geneticamente sem IL-6, observou-se diminuição de perda óssea, sugerindo que a produção de IL-6, que é pró-inflamatória, contribui para a reabsorção óssea. Em outro estudo a IL-11 injetada em animais com D.P., induzida por ligaduras, produziu significativo decréscimo na perda óssea periodontal. Muitos estudos também mostram o TNF- α tendo um papel significativo na perda óssea da D.P.. Osteoclastogênese induzida por *P. gingivalis* foi reduzida em animais com deficiência em receptor para TNF. Também, células imune como os linfócitos são importantes, pois podem produzir IL-1, IL-6 e IL-17, RANKL e TNF- α que podem levar à reabsorção óssea. No meio inflamatório, linfócitos também secretam várias moléculas que inibem diretamente a

formação de osteoclastos, incluindo osteoprotegerina (OPG), IL-4, IL-10, IL-13 e IFN- γ . Células T CD4⁺ são importantes na determinação do efeito das células T contra patógenos. Células T efectoras, CD4⁺, são classificadas em sub-tipos Th1 e Th2. Citocinas produzidas por linfócitos Th1, que incluem IFN- γ e TNF- α e β , são críticas na erradicação de patógenos intra-celular e são geralmente pró-reabsorção, seja por seu efeito direto ou indireto, enquanto citocinas Th2 não são. A resposta imune adaptativa, em particular células T CD4⁺ e as citocinas pró-inflamatórias que elas secretam são importantes efetores da perda óssea como um resultado da infecção bacteriana.

Discussão de COCHRAN (2008) abordou aspectos da inflamação e perda óssea na doença periodontal. A resposta inicial à infecção bacteriana é uma reação inflamatória local que ativa o sistema imune inato. A amplificação dessa resposta inicial localizada resulta na liberação de uma sequência de citocinas e outros mediadores com propagação da inflamação pelos tecidos gengivais. A falha em encapsular essa frente inflamatória dentro do tecido gengival resulta em expansão da resposta adjacente ao osso alveolar. O processo inflamatório então guia a destruição do tecido conjuntivo e osso alveolar, que é o sinal cardinal da doença periodontal. Se a perda óssea ocorrerá em resposta à reação inflamatória depende de dois fatores críticos: primeiro, a concentração de mediadores inflamatórios presentes no tecido gengival deve ser suficiente para ativar esse processo, e segundo, os mediadores inflamatórios devem penetrar o tecido gengival estendendo a uma distância crítica do osso alveolar. A concentração crítica de mediadores inflamatórios que leva à reabsorção óssea depende da expressão de citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-1, IL-6, IL-11, IL-17, TNF- α , fator inibidor de leukemia e oncostatin M. As cininas, tais como bradicinina e kalidin, e trombina e várias quimiocinas também tem efeito estimulador na reabsorção óssea. Em oposição há a expressão de citocinas anti-inflamatórias e outros mediadores tais como IL-4, IL-10, IL-12, IL-13, IL-18, IFN- β , IFN- γ que inibem a reabsorção óssea. Eventualmente a cascata de eventos leva a osteoclastogênese e subsequente perda óssea via receptor ativador de fator nuclear Kappa B (RANK)-RANK ligante (RANKL)- eixo osteoprotegerina (OPG).

Pesquisa de CULLINAN et al (2008) investigou a possível associação entre polimorfismo genético para IL-10 e progressão da doença periodontal. DNA foram obtidos de 252 indivíduos adultos que participavam de um estudo longitudinal de

progressão da doença periodontal na população australiana. Os resultados mostraram que houve um significativo efeito de haplotipos para IL-10 com indivíduos apresentando genótipo ATA/ACC ou ACC/ACC tendo cerca de 20% menos de PS $\geq$ 4 mm comparado com indivíduos com outros genótipos. A idade e tabagismo mostraram efeito adicional. Os autores concluíram que genótipo para IL-10 contribui para a progressão da doença periodontal.

O propósito do estudo desenvolvido por GILL; VYTHILINGAM; PAGE (2008) foi comparar a função imune e o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) em 26 mulheres com desordens pós-traumáticas pelo estresse (PTSD) com e sem maiores desordens depressivas, com 24 mulheres controles, traumatizadas sem depressão, e 21 mulheres controles, não traumatizadas. Os resultados mostraram que as mulheres com PTSD estiveram associadas a baixos níveis de cortisol e altos níveis de di-hidroandrosterona (DHEA), sintetizados pelas adrenais e maior produção de TNF- α e IL-6 comparado aos grupos traumatizado e saudável. Mulheres com PTSD e depressão exibiram maior produção de IL-6 e mais altos níveis de DHEA que aquelas com PTSD, mas sem depressão. Segundo os autores essas descobertas sugerem um descontrole no eixo HPA e função imune em mulheres com PTSD e que a co-morbidade depressão pode contribuir para essas anormalidades.

ENTRINGER et al (2008) estudaram a associação entre estresse pré-natal e função imune em humanos adultos. Sangue periférico foi colhido, de 34 mulheres jovens saudáveis que tornaram-se mães, e que tiveram eventos de vida negativos durante a gravidez (alto nível de estresse pré-natal) e comparado com um grupo controle (28 mulheres). Uma tendência para produção de citocinas Th2 devido a uma maior produção de IL-4 em relação ao IFN- γ foi observado nos indivíduos do grupo com estresse; IL-6 e IL-10 também estiveram significativamente elevadas.

Em 2.009 TELES et al pesquisaram se os níveis de 10 diferentes citocinas na saliva diferiam em grupos de pacientes periodontalmente saudáveis em relação a pacientes com periodontite. Correlação dessas citocinas também foi feita com parâmetros clínicos periodontais. Setenta e quatro sujeitos com periodontite crônica e 44 com periodonto saudável compuseram a amostra, e as citocinas investigadas foram: IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ , TNF- α e GM-CSF (fator estimulador

de colônia de granulócito macrófago). Os resultados mostraram que não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos para nenhuma citocina. Houve fraca associação positiva estatisticamente significativa entre IL-8 salivar e profundidade de sondagem e sangramento à sondagem e fraca correlação negativa entre IL-10 salivar e nível de inserção e sangramento à sondagem. Os autores concluíram que os níveis das citocinas salivares analisadas podem não discriminar entre saúde e doença periodontal.

No ano de 2010, RESCALA et al, avaliaram, no fluido gengival, os níveis de IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-8, IFN- γ e atividade da elastase, na inflamação de sítios periodontais rasos e profundos de pacientes com periodontite generalizada crônica e periodontite generalizada agressiva, e compararam com sítios rasos de indivíduos com gengivite. Um objetivo secundário foi analisar os perfis microbiológicos nesses indivíduos. Foram incluídos no estudo 20 indivíduos com periodontite crônica, 17 com agressiva e 10 com gengivite. Os resultados mostraram que a média dos parâmetros clínicos e volume do fluido gengival foram maiores nos pacientes com periodontite em relação aos casos de gengivite. Altos níveis de IL-1 β e alta atividade da elastase foram encontrados nos sítios profundos comparado com os sítios rasos em ambos os grupos com periodontite. Dados microbiológicos mostraram significativamente mais altos níveis de espécies do complexo vermelho nos pacientes com periodontite comparado com os indivíduos com gengivite. Não houve diferenças estatisticamente significantes nos níveis dos biomarcadores do fluido e espécies bacterianas sub-gengivais entre os indivíduos com periodontite crônica e periodontite agressiva. A IL-4 esteve significativamente em maiores níveis nos sítios rasos de indivíduos com gengivite. Esses resultados confirmam a associação entre níveis de biomarcadores pró-inflamatórios como IL-1 β , IL-2 e elastase com sinais clínicos de doença periodontal, e por outro lado os baixos níveis de IL-4 nos sítios com periodontite sugere que um desequilíbrio entre citocinas pró e anti-inflamatórias pode estar associada com a progressão da doença periodontal.

Proposição

IV- Proposição

Baseado nas justificativas para a realização dessa pesquisa, propusemo-nos:

- analisar os parâmetros periodontais Profundidade de Sondagem(PS), Nível de Inserção (NI), Recessões Gengivais, Índice de Placa (IP), Índice Gengival (IG), Número de Dentes Perdidos (NDP), registrados no início e no final do estudo, comparando um grupo de pacientes submetidos à psicoterapia (grupo experimental) com um grupo de pacientes não submetidos à psicoterapia (grupo controle);
- analisar os níveis de citocinas (IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 e TGF- β) e cortisol na saliva, no início e final do estudo, comparando-se intra e inter-grupos;
- analisar possíveis correlações das citocinas com os parâmetros clínicos periodontais;
- analisar possíveis correlações das citocinas com os níveis de estresse e de cortisol;
- analisar possíveis correlações das citocinas com tipo, distribuição e severidade da doença periodontal;

Material e Métodos

V- Material e métodos

V.1- Seleção da amostra

Para esse estudo foram triados 30 pacientes na Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo. Nessa seleção alguns critérios foram adotados para a inclusão e exclusão dos indivíduos, certificados em uma anamnese minuciosa.

Tais critérios foram:

- 1- presença de doença periodontal (crônica ou agressiva);
- 2- ter entre 18 e 60 anos, sem distinção de gênero ou raça;
- 3- que não estivesse realizando nenhum tipo de tratamento psicológico ou psiquiátrico ou similar, ou que não tivesse realizado tal tipo de terapia há pelo menos 1 ano;
- 4- que não estivesse fazendo uso de antibióticos, anti-inflamatórios, antidepressivos, imunoestimuladores ou imunossupressores há pelo menos 6 meses;
- 5- que não apresentasse nenhum tipo de doença sistêmica que pudesse interferir no sistema imunológico;
- 6- que não fosse fumante.
- 7- que não fosse gestante;
- 8- que não estivesse utilizando estrógenos (anti-concepcionais);
- 9- que não estivesse fazendo uso de anti-convulsivantes;
- 10- que aceitasse participar da pesquisa, por livre e espontânea vontade, sabendo que nenhuma intervenção periodontal seria feita em um período de 3 meses e que poderia ou não estar incluído em um grupo para sessões de psicoterapia nesse período.

Tais pacientes foram divididos aleatoriamente em 2 grupos:

- Grupo controle (15 indivíduos)
- Grupo experimental (15 indivíduos)

V.1.1 – Caracterização dos grupos

Os pacientes selecionados foram divididos aleatoriamente em dois grupos. Embora tenham sido examinados muitos pacientes para a seleção, dentro dos critérios necessários ao estudo, o número final de pacientes selecionados foi de 30, mas 4 deles foram excluídos ao longo dos exames iniciais pela falta de assiduidade, chegando-se ao número final de 26 pacientes, assim distribuídos:

-Grupo controle (13 indivíduos) - no qual nenhuma intervenção periodontal ou psicoterápica foi realizada;

Grupo experimental (13 indivíduos) – no qual embora nenhuma intervenção periodontal tenha sido realizada, os pacientes foram submetidos a psicoterapia em grupo no período experimental (12 sessões no período de 3 meses, ou seja 1 sessão/semana)

V.2- Exame dos pacientes

V.2.1- Anamnese

Esta etapa do exame foi constituída da aplicação de um questionário para investigação das condições de saúde geral de todos os indivíduos selecionados, conforme ficha de anamnese da Disciplina de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Bauru-USP.

V.2.2- Exame periodontal

Neste exame alguns parâmetros clínicos foram registrados no início do estudo (“baseline”).

Para o registro dos parâmetros periodontais foram necessários os seguintes materiais:

- espelho bucal plano
- sonda exploradora convencional nº 5
- sonda exploradora de Nabers
- sonda periodontal milimetrada, marcação de Willians (convencional)
- evidenciador de placa bacteriana (verde malaquita)/cotonetes

V.2.2.1- Exame periodontal inicial

- Profundidade de sondagem (PS)

Esta medida refere-se à distância da margem gengival até a extensão mais apical da sonda no sulco ou bolsa periodontal (em mm) e foi realizada de forma convencional, avaliando-se todas as faces de todos os dentes, em 6 sítios distintos (MV, V, DV, ML, L, DL).

- Recessão ou Hiperplasia gengival (R ou H)

Nesta análise que foi realizada nas 4 faces de todos os dentes, foi registrada a distância (em mm) da margem gengival em relação à junção amelo-cementária.

Assim quando a margem gengival esteve apical à junção amelo-cementária caracterizou recessão gengival e quando esteve coronal ao mesmo referencial caracterizou hiperplasia gengival.

- Nível de inserção clínica (NI)

Esta medida é definida pela distância entre a junção cimento-esmalte e o ponto mais apical da sonda dentro do sulco ou bolsa periodontal (em mm); na dificuldade da localização da junção amelo-cementária, pela presença de restaurações ou outro fator, foi adotada como referência a junção cimento-esmalte do dente adjacente.

Nos sítios com recessão gengival essa medida se caracterizou pela somatória da recessão com a profundidade de sondagem e nos sítios com hiperplasia gengival da profundidade de sondagem diminuiu-se o valor relativo à hiperplasia gengival

Da mesma forma que na profundidade de sondagem, esta análise foi realizada nos mesmos 6 sítios.

- Índice de placa

Para a verificação do índice de placa foi adotado o Índice de Placa de QUIGLEY - HEIN (1962), modificado por TURESKY – GILMORE – GLICKMAN (1970).

Este índice baseia-se na análise quantitativa de placa, utilizando uma solução reveladora, classificando-a em 5 escores:

escore 0 - ausência de placa;

escore 1 – manchas separadas de placa na margem cervical;

escore 2 – uma fina e contínua faixa de placa (± 1 mm) na margem cervical;

escore 3 – uma faixa de placa mais larga que 1 mm, mas cobrindo menos de 1/3 da coroa;

escore 4 – placa cobrindo mais que 1/3 e menos que 2/3 da coroa;

escore 5 – placa cobrindo 2/3 ou mais da coroa

A solução evidenciadora de placa (verde malaquita) foi aplicada com auxílio de um cotonete, seguido de um enxague bucal. Embora a utilização desse índice de placa seja preconizado para análise das faces vestibular e lingual, nós o adaptamos para a análise das 4 faces dos dentes, sendo que nas faces proximais nos baseamos nas ameias dentais próximas ao ponto de contato, por vestibular e por lingual.

- Índice de sangramento gengival

Para a verificação da qualidade de saúde gengival, foi adotado o índice de MUHLEMANN & SON-1971.

Tal índice consiste na avaliação do grau de inflamação gengival de forma clínica, medida pelo sangramento em um período de tempo de até 30 segundos da verificação da profundidade de sondagem, e também pela aparência do tecido gengival, nos mesmos sítios, adotando-se os seguintes escores:

- **Grau 0** – representa aparência saudável da gengiva marginal e papilar, sem sangramento após a sondagem;

- **Grau 1** – quando ocorre sangramento após a sondagem, mas a gengiva marginal e papilar é aparentemente saudável, sem alteração de cor ou edema;

- **Grau 2** – quando ocorre sangramento após a sondagem, com alteração de cor devido à inflamação, mas sem edema aparente;

- **Grau 3** – quando ocorre sangramento após a sondagem, com alteração da cor e discreto edema gengival;

- **Grau 4** – quando ocorre sangramento após a sondagem, com alteração de cor e edema nítidos;

- **Grau 5** – quando há a presença de sangramento espontâneo ou após a sondagem, com alteração de cor e edema intensos, com ou sem ulceração.

- Quantidade de dentes perdidos

Registrou-se o número de dentes que não mais estavam presentes na boca de cada paciente (NDP). Se o dente estivesse na boca do paciente, independente de sua condição periodontal (condenado ou não), a condição de registro era dente presente.

Observações importantes:

- não se considerou os 3^{os} molares, em nenhum dos exames realizados nesse estudo, pelo fato de que esses dentes poderiam ou não estar presentes, e quando presentes muitos poderiam apresentar irrompimento inadequado, por falta de espaço, e certamente esse aspecto alteraria os parâmetros periodontais;
- todos os registros dos parâmetros clínicos adotados nesse estudo foram realizados pelo mesmo examinador (o autor da pesquisa), com larga experiência no registro dos parâmetros adotados.
- para se evitar um registro tendencioso nos registros periodontais, nos exames inicial e final, o examinador não sabia em qual dos grupos os pacientes estavam distribuídos (controle ou experimental).

V.2.2.2- Exame periodontal final

Todos os parâmetros clínicos registrados no início do estudo foram novamente avaliados no final do estudo (após 3 meses) seguindo-se exatamente os mesmos critérios adotados anteriormente.

V.2.2.3- Exame radiográfico

Todos os pacientes de ambos os grupos, no *baseline*, foram submetidos a exame radiográfico, com uma tomada de radiografia panorâmica. Essa radiografia permitiu o auxílio ao diagnóstico quanto ao tipo de doença periodontal (casos crônicos ou agressivos), quanto à distribuição da doença (casos localizados ou generalizados) e quanto à severidade da doença (casos brandos, moderados ou avançados).

V.2.2.4- Coleta de saliva

As coletas de saliva para a dosagem de citocinas ocorreram da seguinte forma:

- no “baseline” - coletas de saliva em 3 dias consecutivos em tubos eppendorf;

- no final do período experimental – coletas de saliva em 3 dias consecutivos em tubos eppendorf.

Todas as coletas de saliva ocorreram por volta das 17:00 h; os pacientes ao chegarem eram mantidos sob repouso por aproximadamente 1h e então faziam um enxague oral com água e então eram orientados a executarem a coleta em um tubo eppendorf.

Após as coletas todos os tubos eppendorf foram mantidos sob congelamento em freezer.

As coletas ocorreram desta forma pelo fato da saliva também ter sido utilizada em outro estudo para a análise dos níveis de cortisol.

V.3- Intervenção periodontal durante o período experimental da pesquisa

Nenhuma intervenção periodontal foi realizada em nenhum paciente de ambos os grupos, nem mesmo instruções de higiene bucal; entretanto após o término do período experimental desse estudo, todos os pacientes foram reavaliados e encaminhados para tratamento periodontal e outros dentro das necessidades individuais.

V. 4 – Dosagem de citocinas na saliva

-ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*)

As concentrações das citocinas (IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 e TGF- β) presentes na saliva, foram mensuradas através de ensaios enzimáticos (Elisa), utilizando-se kits comerciais (eBioscience) seguindo as recomendações do fabricante. As leituras das reações colorimétricas foram realizadas a 450 nm em leitor de microplacas (EMAX, Molecular Devices Corporation, Sunnyvale, CA, USA). A concentração das citocinas nas amostras de saliva analisadas foram determinadas a partir dos valores obtidos com a curva padrão realizada com as diferentes diluições da proteína recombinante.

Esse experimento foi realizado no Laboratório de Microbiologia e Imunologia do Departamento de Ciências Biológicas da FOB-USP

Observação – Cabe ressaltar que os pacientes dessa pesquisa foram os mesmos de um estudo na área de psicologia/ periodontia, em que foi analisado a relação estresse-doença periodontal, com avaliação psicológica, periodontal e laboratorial (Elisadosem de cortisol salivar) que culminou na Tese de Doutorado da Psicóloga Mônica Perri Kohl Greghi, “Efeito da Psicoterapia Junguiana na Doença Periodontal”, defendida em outubro de 2009 na PUC-SP, conforme referência bibliográfica (GREGHI - 2009). Tal projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Bauru-USP em 03 de dezembro de 2008, processo nº 116/2008. Nessa pesquisa toda a condução dos atendimentos e análises psicoterápicas ficou sob a responsabilidade da Psicóloga Mônica P. K. Greghi e toda a parte periodontal/laboratorial ficou sob a responsabilidade do Prof. Dr. Sebastião Luiz Aguiar Greghi (Periodontia, FOB-USP). Toda a parte metodológica periodontal e laboratorial dessa tese foi realizada na Faculdade de Odontologia de Bauru-USP e a realização da psicoterapia foi conduzida na clínica particular da psicoterapeuta.

O excedente da saliva coletada dos pacientes desse 1º estudo foi utilizado para a dosagem das citocinas na atual pesquisa.

Como a presente pesquisa faz parte de um projeto inter-disciplinar, os valores médios da concentração dos níveis de cortisol salivar , assim como os valores relativos ao nível de estresse dos pacientes de ambos os grupos, no início e no final do estudo, foram importados da Tese Prof. Dra. Mônica Perri Kohl Greghi (UNESP – Bauru), para a realização de possíveis correlações com os níveis de citocinas; cabe registrar que para a dosagem dos níveis de cortisol salivar desta pesquisa utilizou-se o SALIVETTE® (DSL-10-67-1000 ACTIVE®) e para o registro do nível de estresse utilizou-se o “Inventário para Sintomas de stress para adultos” - ISSL (LIPP-2.000) conforme metodologia desta pesquisa.

Resumo da seqüência dos procedimentos realizados na pesquisa:

- Grupo Controle:

- avaliação psicológica inicial quanto ao nível de estresse (dados importados);
- coletas iniciais de saliva para dosagem inicial de cortisol (dados importados) e dosagem inicial das citocinas;
- anamnese e exame clínico periodontal inicial;
- tomada de radiografia panorâmica

- coletas finais de saliva (após 3 meses) para dosagem final de cortisol (dados importados) e dosagem final das citocinas);
- avaliação psicológica final quanto ao nível de estresse (após 3 meses)(dados importados);
- exame clínico periodontal final (após 3 meses).

-Grupo Experimental

- avaliação psicológica inicial quanto ao nível de estresse (dados importados);
- coletas iniciais de saliva para dosagem inicial de cortisol (dados importados) e dosagem inicial das citocinas;
- anamnese e exame clínico periodontal inicial;
- tomada de radiografia panorâmica
- psicoterapia por 3 meses (12 sessões);
- coletas finais de saliva, após psicoterapia, para dosagem final de cortisol (dados importados) e dosagem final das citocinas);
- avaliação psicológica final quanto ao nível de estresse, após psicoterapia (dados importados);
- exame clínico periodontal final, após psicoterapia.

V.5 – Testes estatísticos

A análise estatística foi conduzida pelo Prof. Dr. José Roberto Lauris da Disciplina de Saúde Coletiva da FOB-USP.

Foram utilizados os seguintes testes:

- Coeficiente de Correlação de Spearman para verificação de possíveis correlações entre variáveis;
- Teste não pareado de Mann-Whitney (para análise inter-grupos);
- Teste pareado de Wilcoxon (para análise intra-grupos).

VI- Resultados

VI.1- Análise estatística considerando toda a amostra (N=26)

Tabela 1. Distribuição dos indivíduos da pesquisa por gênero

	N	%
Masculino	9	35%
Feminino	17	65%

Figura 1. Distribuição dos indivíduos da pesquisa por gênero

Tabela 2. Distribuição dos indivíduos da pesquisa por idade (em anos)

	Idade
Menor	30
Maior	56
Média	$42,12 \pm 6,761$

Figura 2. Distribuição dos indivíduos da pesquisa por idade (em anos)

Tabela 3. Distribuição dos indivíduos da pesquisa por tipo de doença periodontal

	N	%
Crônica	22	85%
Agressiva	4	15%

Figura 3. Distribuição dos indivíduos da pesquisa por tipo de doença periodontal

Tabela 4. Distribuição dos indivíduos da pesquisa pela localização da doença periodontal

	N	%
Localizada	19	73%
Generalizada	7	27%

Figura 4. Distribuição dos indivíduos da pesquisa pela localização da doença periodontal

Tabela 5. Distribuição dos indivíduos da pesquisa pela severidade da doença periodontal

	N	%
Branda	9	34,62%
Moderada	12	46,15%
Avançada	5	19,23%

Figura 5. Distribuição dos indivíduos da pesquisa pela severidade da doença periodontal

Tabela 6. Distribuição dos indivíduos da pesquisa pela condição de estresse (Avaliação psicológica)

Nível de Estress	Inicial	
	N	%
Sem estresse	11	42%
Alerta	0	0%
Resistência	10	38%
Quase Exaustão	5	19%
Exaustão	0	0%

Figura 6. Distribuição dos indivíduos da pesquisa pela condição de estresse (Avaliação psicológica)

Tabela 7. Parâmetros periodontais

	Media	dp
PS (mm)	2,90	0,75
NI (mm)	3,34	0,87
IP (escore)	2,44	0,57
IG (escore)	1,50	0,72
NDP (unidade)	3,89	3,14

Figura 7. Parâmetros Periodontais

PS - Profundidade de sondagem (boca toda); NI - Nível clínico de inserção (boca toda); IP - Índice de placa (boca toda); IG - Índice gengival (boca toda); NDP - Número de dentes perdidos.

Tabela 8. Distribuição dos sítios quanto a profundidade de sondagem (em %)

PS (mm)	Media	dp
1 a 3	72,97	16,62
4 a 5	17,18	9,28
6 a 7	7,79	6,87
> 7	2,36	3,71

Figura 8. Distribuição dos sítios quanto a profundidade de sondagem (em %)

Tabela 9. Distribuição dos sítios quanto ao índice de placa (em %)

IP score	Media	dp
0	11,82	8,60
1	14,42	5,26
2	25,28	10,10
3	23,03	7,23
4	17,74	9,90
5	7,677	9,91

Figura 9. Distribuição dos sítios quanto ao índice de placa (em %)

Tabela 10. Distribuição dos sítios quanto ao índice gengival (em %)

IG escore	Media	dp
0	38,61	16,43
1	20,78	8,558
2 a 3	29,96	12,35
4 a 5	10,65	14,31

Figura 10. Distribuição dos sítios quanto ao índice gengival (em %)

Tabela 11. Nível de cortisol e citocinas salivares

	Media	dp
IL-4 (pg/mL)	12,37	15,37
IL-6 (pg/mL)	8,29	17,82
IL-8 (pg/mL)	373,10	127,60
IL-10 (pg/mL)	6,46	12,31
TGF- β (pg/mL)	2,09	10,68
NC (μ g/dL)	0,54	0,32

Figura 11. Nível de cortisol e citocinas salivares

IL - Interleucina;

TGF-b - Fator de Crescimento Transformador;

NC - Nível de Cortisol

Tabela 12. Correlação entre parâmetros periodontais, condições de estresse, nível de cortisol e citocinas salivares

	N	Sperman	p	
PS(mm) vs NI(mm)	26	0,8555	0,0001	***
PS(mm) vs IP(escore)	26	0,5069	0,0082	**
PS(mm) vs IG(escore)	26	0,8215	0,0001	***
NI(mm) vs IP(escore)	26	0,476	0,014	*
NI(mm) vs IG(escore)	26	0,7437	0,0001	***
NI(mm) vs IL-4($\mu\text{g/mL}$)	26	0,0397	0,0443	*
IP(escore) vs IG(escore)	26	0,5001	0,0093	**
IP(escore) vs IL-8($\mu\text{g/mL}$)	26	0,5675	0,0025	**
NC ($\mu\text{g/dL}$) vs IL-8($\mu\text{g/mL}$)	26	0,6584	0,0003	***
Severidade vs IL-8($\mu\text{g/mL}$)	26	0,4515	0,0210	*

Dentre todas as correlações analisadas entre todos os parâmetros vistos no estudo foram apresentadas apenas as correlações estatisticamente significantes. Teste estatístico de correlação de Spearman. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Figura 12. Inexistente

VI.2- Análise estatística considerando de forma separada o grupo controle e o grupo experimental

Tabela 13. Distribuição dos indivíduos da pesquisa por gênero

	Grupo Controle		Grupo Experimental	
	N	%	N	%
Masculino	4	30,77	5	38,46
Feminino	9	69,23	8	61,54

Figura 13. Distribuição dos indivíduos da pesquisa por gênero

Tabela 14. Distribuição dos indivíduos da pesquisa por idade (em anos)

	Grupo Controle N=13	Grupo Experimental N=13
Menor	35	30
Maior	56	50
Média	44	40,2

Figura 14. Distribuição dos indivíduos da pesquisa por idade (em anos)

Tabela 15. Distribuição dos indivíduos da pesquisa por tipo de doença periodontal

	Grupo Controle		Grupo Experimental	
	N	%	N	%
Crônica	10	76,92	12	92,31
Agressiva	3	23,08	1	7,69

Figura 15. Distribuição dos indivíduos da pesquisa por tipo de doença periodontal

Tabela 16. Distribuição dos indivíduos da pesquisa pela localização da doença periodontal

	Grupo Controle		Grupo Experimental	
	N	%	N	%
Localizada	10	76,92	9	69,23
Generalizada	3	23,08	4	30,77

Figura 16. Distribuição dos indivíduos da pesquisa por localização da doença periodontal

Tabela 17. Distribuição dos indivíduos da pesquisa pela severidade da doença periodontal

	Grupo Controle		Grupo Experimental	
	N	%	N	%
Branda	6	46,15	3	23,08
Moderada	5	38,46	7	53,85
Avançada	2	15,38	3	23,08

Figura 17. Distribuição dos indivíduos da pesquisa pela severidade da doença periodontal

Tabela 18. Distribuição dos indivíduos da pesquisa pela condição de estresse inicial e final no Grupo Controle (Avaliação psicológica)

Nível de Estresse	Inicial		Final	
	N	%	N	%
Sem estresse	7	53,85	6	46,15
Alerta	0	0,00	1	7,69
Resistência	4	30,77	4	30,77
Quase Exaustão	2	15,38	1	7,69
Exaustão	0	0,00	1	7,69

Figura 18. Distribuição dos indivíduos da pesquisa pela condição de estresse inicial e final no Grupo Controle (Avaliação psicológica)

Tabela 19. Distribuição dos indivíduos da pesquisa pela condição de estresse inicial e final no Grupo Experimental (Avaliação psicológica)

Nível de Estresse	Inicial		Final	
	N	%	N	%
0	4	30,77	9	69,23
1	0	0,00	0	0,00
2	6	46,15	3	23,08
3	3	23,08	1	7,69
4	0	0,00	0	0,00

Figura 19. Distribuição dos indivíduos da pesquisa pela condição de estresse inicial e final no Grupo Experimental (Avaliação psicológica)

Tabela 20. Comparação dos parâmetros periodontais dentro do período experimental no Grupo Controle e no Grupo Experimental

		Inicial		Final		<i>P</i>	
		Média	dp	Média	dp		
Grupo Controle	PS (mm)	2,79	0,76	2,90	0,99	0,2214	ns
	NI (mm)	3,35	1,00	3,46	1,24	0,2124	ns
	IP (escore)	2,19	0,51	2,42	0,56	0,0266	*
	IG (escore)	1,39	0,73	1,34	0,75	0,5485	ns
	NDP (unidade)	3,69	3,12	3,69	3,12	1,0000	ns
Grupo Experimental	PS (mm)	3,01	0,75	2,99	0,81	0,7740	ns
	NI (mm)	3,33	0,76	3,23	0,89	0,4268	ns
	IP (escore)	2,68	0,53	1,90	0,37	<0,001	***
	IG (escore)	1,60	0,72	1,18	0,71	0,0053	**
	NDP (unidade)	4,08	3,28	4,38	3,84	0,2188	ns

Teste estatístico de Mann-Whitney para as análises intra-grupos. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Figura 20. Comparação dos parâmetros periodontais dentro do período experimental no Grupo Controle e no Grupo Experimental

Tabela 21. Distribuição dos sítios quanto a profundidade de sondagem no grupo controle e no grupo experimental (em %)

	PS (mm)	Inicial		Final	
		Media	dp	Media	dp
Grupo Controle	1 a 3	74,66	16,53	74,05	20,63
	4 a 5	17,73	8,76	16,26	9,42
	6 a 7	5,98	6,48	7,24	8,93
	> 7	1,63	3,86	2,44	6,16
Grupo Expetimental	1 a 3	71,28	17,22	72,93	18,15
	4 a 5	16,64	10,11	15,83	9,98
	6 a 7	9,00	7,16	7,98	7,30
	> 7	3,08	3,56	3,25	4,20

Figura 21. Distribuição dos sítios quanto a profundidade de sondagem no grupo controle e no grupo experimental (em %)

Tabela 22. Distribuição dos sítios quanto ao índice de placa no grupo controle e no grupo experimental (em %)

	IP score	Inicial		Final	
		Média	dp	Média	dp
Grupo Controle	0	14,86	8,40	16,69	9,23
	1	15,12	5,79	10,87	5,45
	2	29,52	10,39	24,08	6,93
	3	21,91	8,34	22,69	8,39
	4	13,55	8,08	13,87	5,98
	5	5,01	5,32	11,78	9,26
Grupo Experimental	0	8,78	7,97	21,55	7,73
	1	13,72	4,81	11,95	6,05
	2	21,04	8,09	33,68	6,44
	3	24,16	6,06	22,58	8,00
	4	21,93	10,04	8,16	5,31
	5	10,35	12,68	2,06	1,37

Figura 22. Distribuição dos sítios quanto ao índice de placa no grupo controle e no grupo experimental (em %)

Tabela 23. Distribuição dos sítios quanto ao índice gengival no grupo controle e no grupo experimental (em %)

	IG escore	Inicial		Final	
		Média	dp	Média	dp
Grupo Controle	0	38,61	16,43	41,62	15,20
	1	20,78	8,558	17,84	8,67
	2 a 3	29,96	12,35	31,64	11,61
	4 a 5	10,65	14,31	8,87	15,00
Grupo Experimental	0	33,10	14,16	44,99	20,12
	1	23,78	12,71	20,19	5,13
	2 a 3	27,03	12,61	27,07	14,48
	4 a 5	16,09	14,11	7,74	11,40

Figura 23. Distribuição dos sítios quanto ao índice gengival no grupo controle e no grupo experimental (em %)

Tabela 24. Comparação do nível de cortisol e das citocinas salivares dentro do período experimental no Grupo Controle e no Grupo Experimental

		Inicial		Final		<i>P</i>	
		Media	dp	Media	dp		
Grupo Controle	IL-4 (pg/mL)	16,83	19,65	20,78	15,44	0,2860	ns
	IL-6 (pg/mL)	4,19	2,10	9,54	7,63	0,0464	*
	IL-8 (pg/mL)	275,41	82,72	227,67	77,43	0,0747	ns
	IL-10 (pg/mL)	10,32	16,62	7,50	11,32	0,2787	ns
	TGF- β (pg/mL)	0,00	0,00	0,44	1,08	1,0000	ns
	NC (μ g/dL)	0,32	0,19	0,25	0,13	0,2996	ns
Grupo Experimental	IL-4 (pg/mL)	7,91	7,95	11,27	6,05	0,1005	ns
	IL-6 (pg/mL)	12,38	24,92	3,44	1,67	0,5829	ns
	IL-8 (pg/mL)	470,73	80,21	401,06	198,48	0,3078	ns
	IL-10 (pg/mL)	2,59	2,67	4,21	3,55	0,0640	ns
	TGF- β (pg/mL)	4,19	15,1	29,24	76,38	0,2733	ns
	NC (μ g/dL)	0,76	0,27	0,54	0,23	0,0020	**

Teste estatístico de Mann-Whitney para as análises intra-grupos. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Figura 24. Comparação do nível de cortisol e das citocinas salivares dentro do período experimental no Grupo Controle e no Grupo Experimental

Tabela 25. Correlação entre parâmetros periodontais, condições de estresse e cortisol e citocinas salivares (Início, Fim, Variação) no Grupo Controle

		N	Spearman	P	
Início	PS(mm) vs NI(mm)	13	0,8352	0,0004	****
	PS(mm) vs IP(escore)	13	0,7373	0,0040	**
	PS(mm) vs IG(escore)	13	0,7418	0,0037	**
	NI(mm) vs IP(escore)	13	0,6823	0,0102	*
	NI(mm) vs IG(escore)	13	0,7308	0,0045	**
	NI(mm) vs IL-10(ρ g/mL)	13	0,5769	0,0390	*
	IP(escore) vs IG(escore)	13	0,751	0,0031	**
	IP(escore) vs IL-8(ρ g/mL)	13	0,5915	0,0332	*
	NC(μ g/dL) vs IL-6(ρ g/mL)	13	-0,7421	0,0037	**
	Estresse(escore) vs IL-10(ρ g/mL)	13	-0,7512	0,0031	**
Final	PS(mm) vs NI(mm)	13	0,9176	0,0001	****
	PS(mm) vs IP(escore)	13	0,7308	0,0045	**
	NI(mm) vs IP(escore)	13	0,5549	0,0490	*
	NDP(und) vs NC(μ g/dL)	13	-0,5739	0,0403	*
	TGF-b(ρ g/mL) vs IL-8(ρ g/mL)	13	0,6268	0,0219	*
	IL-4(ρ g/mL) vs IL-6(ρ g/mL)	13	0,6796	0,0106	*
	Estresse(escore) vs IL-10(ρ g/mL)	13	-2,2926	0,0426	*
Variação	PS(mm) vs NI(mm)	13	0,9986	0,0001	****
	IP(escore) vs IG(escore)	13	0,6501	0,0161	*
	NC(μ g/dL) vs TGF-b(ρ g/mL)	13	0,6365	0,0193	*
	NC(μ g/dL) vs IL-4(ρ g/mL)	13	-0,6565	0,0148	*
	TGF-b(ρ g/mL) vs IL-4(ρ g/mL)	13	-0,6276	0,0216	*

Dentre todas as correlações analisadas entre todos os parâmetros vistos no estudo foram apresentadas apenas as correlações estatisticamente significantes. Teste estatístico de correlação de Spearman. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Figura 25. inexistente

Tabela 26. Correlação entre parâmetros periodontais, condições de estresse e cortisol e citocinas salivares (Início, Fim, Variação) no Grupo Experimental

		N	Spearman	P	
Início	PS(mm) vs NI(mm)	13	0,9231	0,0001	****
	PS(mm) vs IG(escore)	13	0,8352	0,0004	****
	NI(mm) vs IG(escore)	13	0,8132	0,0007	****
	IL-6(ρ g/mL) vs IL-10(ρ g/mL)	13	0,5967	0,0313	*
Final	PS(mm) vs NI(mm)	13	0,9286	0,0001	****
	PS(mm) vs IG(escore)	13	0,8583	0,0002	****
	NI(mm) vs IG(escore)	13	0,8391	0,0003	****
	IL-6(ρ g/mL) vs IL-10(ρ g/mL)	13	0,5824	0,0367	*
Variação	PS(mm) vs NI(mm)	13	0,9434	0,0001	****
	NC(μ g/dL) vs IL-4(ρ g/mL)	13	-0,7658	0,0023	**
	TGF- β (ρ g/mL) vs IL-10(ρ g/mL)	13	0,5906	0,0336	*

Dentre todas as correlações analisadas entre todos os parâmetros vistos no estudo foram apresentadas apenas as correlações estatisticamente significantes. Teste estatístico de correlação de Spearman. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Figura 26. inexistente

VI-3 Análise estatística dos 6 pacientes do Grupo Experimental que obtiveram melhora sob o ponto de vista psicoterápico.**Tabela 27.** Distribuição dos indivíduos que obtiveram melhora sob o ponto de vista psicoterápico por gênero

	N	%
Masculino	1	17%
Feminino	5	83%

Figura 27. Distribuição dos indivíduos que obtiveram melhora sob o ponto de vista psicoterápico por gênero

Tabela 28. Distribuição dos indivíduos que obtiveram melhora sob o ponto de vista psicoterapico por idade (em anos)

	N=13
Menor	35
Maior	45
Média	39,16

Figura 28. Distribuição dos indivíduos que obtiveram melhora sob o ponto de vista psicoterápico por idade (em anos)

Tabela 29. Distribuição dos indivíduos que obtiveram melhora sob o ponto de vista psicoterápico pelo tipo da doença periodontal

	N	%
Crônica	6	100
Agressiva	0	0

Figura 29. Distribuição dos indivíduos que obtiveram melhora sob o ponto de vista psicoterápico pelo tipo da doença periodontal.

Tabela 30. Distribuição dos indivíduos que obtiveram melhora sob o ponto de vista psicoterápico pela localização da doença periodontal

	N	%
Localizada	6	100
Generalizada	0	0

Figura 30. Distribuição dos indivíduos que obtiveram melhora sob o ponto de vista psicoterápico pela localização da doença periodontal.

Tabela 31. Distribuição dos indivíduos que obtiveram melhora sob o ponto de vista psicoterápico pela severidade da doença periodontal

	N	%
Branda	1	17,00
Moderada	4	66,00
Avançada	1	17,00

Figura 31. Distribuição dos indivíduos que obtiveram melhora sob o ponto de vista psicoterápico pela severidade da doença periodontal.

Tabela 32. Comparação dos parâmetros periodontais no período experimental nos indivíduos que obtiveram melhora sob o ponto de vista psicoterápico (N=6)

	Inicial		Final		<i>P</i>	
	Media	dp	Media	dp		
PS (mm)	2,65	0,71	2,64	0,57	1,0000	ns
NI (mm)	2,99	0,73	2,96	0,68	0,6991	ns
IP (escore)	2,50	0,38	1,82	0,37	0,0304	*
IG (escore)	1,40	0,60	0,93	0,48	0,3939	ns
NDP (unidade)	2,83	1,83	2,83	1,83	1,0000	ns

Teste estatístico de Mann-Whitney para as análises intra-grupos. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Figura 32. Comparação dos parâmetros periodontais dentro do período experimental nos indivíduos que obtiveram melhora sob o ponto de vista psicoterápico (N=6)

Tabela 33. Comparação do nível de cortisol e das citocinas salivares no período experimental nos indivíduos que obtiveram melhora sob o ponto de vista psicoterápico (N=6)

	Inicial		Final		P	
	Media	dp	Media	dp		
IL-4 (pg/mL)	5,11	3,98	9,63	5,27	0,3095	ns
IL-6 (pg/mL)	9,46	8,29	3,56	1,54	0,2403	ns
IL-8 (pg/mL)	451,70	105,80	438,50	195,00	0,8182	ns
IL-10 (pg/mL)	4,30	2,85	4,59	4,02	0,9372	ns
TGF- β (pg/mL)	9,07	22,23	3,03	7,41	1,0000	ns
NC (μ g/dL)	0,65	0,10	0,41	0,15	0,0087	**

Teste estatístico de Mann-Whitney para as análises intra-grupos. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Figura 33. Comparação do nível de cortisol e das citocinas salivares dentro do período experimental nos indivíduos que obtiveram melhora sob o ponto de vista psicoterápico (N=6)

Tabela 34 – Níveis de cortisol e citocinas no início e no final do estudo, dos 6 indivíduos do grupo experimental que exibiram melhora psicológica

Pac.	TGF- β		IL-4		IL-6		IL-8		IL-10		NC	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
E-2	0,00	0,00	5,57	8,27	0,96	1,99	526,11	552,45	0,00	0,34	0,66	0,24
E-4	0,00	0,00	9,37	6,24	4,49	6,14	489,31	542,82	5,26	9,69	0,74	0,37
E-8	0,00	18,16	2,75	9,04	8,99	3,73	389,9	424,51	6,35	9,6	0,69	0,27
E-9	0,00	0,00	2,94	5,54	3,18	2,2	271,22	65,77	7,07	2,28	0,45	0,40
E10	54,45	0,00	0,00	8,67	20,66	4,34	562,39	442,5	5,62	2,91	0,68	0,62
E13	0,00	0,00	10,06	20	18,52	2,97	471,4	602,95	1,51	2,73	0,71	0,55

Citocinas em $\mu\text{g/mL}$ e NC em $\mu\text{g/dL}$

Tabela 35 – Parâmetros clínicos periodontais no início e final do estudo, dos 6 indivíduos do grupo experimental que exibiram melhora psicológica

Pac.	MPS		MNI		MIP		MIG		NDP	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
E-2	3,43	2,77	3,60	2,94	2,40	1,92	1,28	0,81	4	4
E-4	2,69	2,59	3,38	3,17	2,38	1,54	1,40	0,92	4	4
E-8	3,00	3,47	3,62	4,09	3,26	2,41	2,01	1,49	2	2
E-9	3,19	3,00	3,22	3,03	2,13	1,30	2,18	1,46	5	5
E10	1,66	2,03	2,14	2,51	2,44	1,87	0,79	0,27	2	2
E13	1,90	1,97	1,98	2,05	2,40	1,87	0,73	0,62	0	0

MPS – média da PS de todos os sítios de todos os dentes (mm)

MNI – média do NI de todos os sítios de todos os dentes (mm)

MIP – média do IP de todos os sítios de todos os dentes (escore)

MIG – média do IG de todos os sítios de todos os dentes (escore)

NDP – número de dentes perdidos (ausentes)

DISCUSSÃO

VII- Discussão

VII.1- da metodologia

VII.1.1- Amostra

Para a realização desse estudo foram avaliados 26 pacientes com doença periodontal. Embora muitos pacientes tenham sido examinados, mas considerando todos os critérios de exclusão/inclusão e que aceitassem participar desse tipo de pesquisa, conseguimos um total de 30 indivíduos; ainda, desse total, 4 indivíduos foram excluídos por não serem assíduos às convocações necessárias. Assim, 26 sujeitos compuseram o número final da amostra do estudo.

Embora essa amostragem (N=26) em valores absolutos não seja grande, podemos considerá-la significativa, sobretudo se considerarmos as dificuldades em estudos desta natureza, pois a maior dificuldade é a adesão do indivíduo, sabendo que sua queixa é apenas odontológica.

A amostra dessa pesquisa deveria incluir apenas indivíduos com doença periodontal, que não tivessem se submetido a tratamento prévio nos últimos 6 meses; como os pacientes que procuram atendimento a esse tipo de patologia, via de regra querem urgência por apresentarem sintomatologia que os incomoda (dor, mobilidade dentária, sangramento gengival, etc.), haja visto que o que se observa frequentemente é que os pacientes raramente recorrem a controles preventivos periódicos regulares, a maioria deles não se interessa em participar de um estudo que não o contemple de imediato em relação a sua queixa.

Assim a adesão de 26 pacientes pode ser considerada expressiva; os indivíduos se comprometeram a participar do estudo comparecendo a todas as convocações e sobretudo a adiarem o tratamento periodontal por no mínimo 3 meses, sem que qualquer intervenção periodontal fosse realizada durante o período experimental e nem mesmo qualquer informação periodontal fosse passada a eles (nem mesmo orientação da higiene bucal) , para que não se corresse o risco de interferir nos resultados. Entretanto esses pacientes estavam cientes da pesquisa, aceitaram de livre e espontânea vontade participar do estudo (conforme documentação enviada e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOB-USP).

Todos os pacientes compareceram nesse período de 3 meses, em várias convocações, sendo uma convocação inicial para formalização do convite à participação na pesquisa, uma convocação para a realização dos exames periodontais iniciais, três convocações em dias sucessivos para a coleta de saliva no início do estudo e uma convocação para a aplicação dos questionário para a avaliação psicológica no início do estudo; posteriormente no final do período experimental repetiu-se novamente os exames periodontais, as coletas salivares e a avaliação psicológica, totalizando onze convocações.

O grupo experimental além dessas onze convocações, como fora submetido à psicoterapia, foi adicionalmente convocado para mais doze sessões (1 sessão por semana) neste período experimental de 3 meses, perfazendo vinte e três convocações.

Como pode-se constatar, a adesão de indivíduos (que procuraram atendimento à FOB-USP e de certa forma queriam urgência no tratamento por motivos diversos) à essa pesquisa com extrema assiduidade à todas as convocações não foi uma tarefa fácil e por isso a amostra obtida pode ser considerada adequada ao estudo.

Como não há nenhum estudo na literatura com essas características, não há nem mesmo como se comparar o N utilizado em nossa pesquisa.

VII.1.2- Parâmetros clínicos utilizados

Para a análise das condições periodontais utilizou-se parâmetros clássicos como o registro da profundidade de sondagem (PS), recessão/hiperplasia, nível clínico de inserção (NI), índices de placa (IP) e gengival (IG), além do registro do número de dentes perdidos (NDP=ausentes).

Embora se tenha utilizado sonda manual na tomada da profundidade de sondagem, como de regra se utiliza nas documentações de rotina e de pesquisa, ela foi feita de forma criteriosa e por apenas um examinador (o autor dessa pesquisa, com mais de 20 anos de experiência na área de Periodontia). Todas as sondas eram da mesma marca, com diâmetro e milimetragem das pontas absolutamente semelhantes. Certamente esses aspectos contribuíram para que pudéssemos ter registros mais confiáveis, sabendo-se das possíveis variáveis que naturalmente ocorrem quando da realização desses exames.

Cabe ressaltar que quando do registro de todos esses parâmetros clínicos, o operador não tinha a informação a qual grupo o paciente pertencia. Os pacientes foram

triados e após distribuídos aleatoriamente (grupo controle e experimental) pela Psicóloga Mônica Perri Kohl Gregghi, para a sequência dos estudos realizados. Dessa forma não houve acesso ao examinador em saber em qual grupo estava o paciente e também a psicóloga não teve acesso às condições periodontais dos indivíduos da pesquisa durante o período experimental dos estudos (tanto nesse estudo quanto no estudo anterior realizado pela Psicóloga Mônica). Quando do exame final, no término do período experimental, também não houve acesso aos dados do exame inicial seja pelo Periodontista, seja pela Psicóloga.

Para o registro dos dados clínicos, os 3^{os} molares foram excluídos do exame, pelo fato de que muitos já estavam ausentes sendo que muitas vezes a ausência poderia estar ligada a agenesia ou não estar relacionada com doença periodontal (por exemplo exodontia por falta de espaço), e também porque via de regra esses dentes estão mal posicionados e/ou mal irrompidos; isso certamente poderia alterar “falsamente” o registro da quantidade de dentes perdidos, da profundidade de sondagem, do nível de inserção e os índices de placa e gengival, mais que qualquer outro dente.

Quanto ao índice de placa utilizado, o Índice de QUIGLEY; HEIN (1962) modificado por TURESKY-GILMORE-GLIKMAN (1970), é um índice que analisa quantitativamente a presença da placa bacteriana sobre a superfície dos dentes de forma mais detalhada, com escores indo de 0 à 5; utilizou-se para a evidenciação da placa bacteriana, o corante verde malaquita, que oferece um bom contraste.

Embora esse índice seja preconizado pelos autores para análise apenas das faces V e L/P, nós o adaptamos para a análise das quatro faces de interesse periodontal, sendo que na M e na D examinou-se a região das ameias proximais, da região próxima ao ponto de contato até a papila gengival, tanto do lado V como por L.

Assim como o índice de placa, para o índice gengival, utilizou-se o Índice de Sangramento gengival de MUHLEMANN & SON (1971) que também é um índice bem detalhado da condição gengival, considerando o sangramento após a sondagem e as características inflamatórias clínicas do tecido gengival.

A vantagem de se utilizar índices com muitos escores é que permite o diagnóstico de variações quantitativas menos expressivas, diferentemente daqueles que registram apenas as grandes variações; e ainda mais pelo fato de que nessa pesquisa o período experimental seria de curta duração, era necessário a adoção de índices com uma amplitude maior de escores para se poder detectar mais facilmente as pequenas variações. Esses fatos justificaram a escolha desses índices mais detalhados.

Por outro lado, como esses índices trabalham com variações mais sutis quantitativamente, há um maior risco de se confundir na interpretação. Para se minimizar a margem de erro nessas leituras, três atitudes metodológicas importantes foram tomadas: primeiro o fato de ser sempre o mesmo examinador a examinar todos os indivíduos, eliminando assim uma variação natural que existe inter-examinadores; segundo, o fato do examinador conhecer esses índices de outros trabalhos e mesmo assim ter realizado um período de “treinamento” para uma melhor padronização nas interpretações, e em terceiro lugar foi o fato de termos tabulado certos dados em agrupamentos. Como o índice de placa adota referenciais mais objetivos os escores foram tabulados separadamente, mas para o índice gengival as nuances dos sinais clínicos de inflamação poderiam acarretar interpretações com muita subjetividade, e então os escores 2 e 3 assim como os escores 4 e 5, foram agrupados para a análise estatística.

Outro agrupamento de dados que se fez esteve relacionado às profundidades de sondagem, ou seja, agrupou-se para a análise estatística os sítios com profundidade de 1 a 3 mm, 4-5 mm, 6-7 mm e >7 mm e comparou-se a distribuição dos sítios nesses padrões de profundidade.

Quanto ao registro dos dentes perdidos, foi considerado o número absoluto de dentes ausentes, com exceção dos 3^{os} molares, excluídos da amostra, conforme previamente explicado. Dentes mesmo com alterações periodontais severas que os condenassem, foram registrados como presentes naquele momento. O registro do total de perdas dentárias foi utilizado para possíveis correlações com outros parâmetros.

VII.1.3 –Exames laboratoriais

Embora existam publicações analisando níveis de cortisol salivar, analisando níveis de citocinas salivares, não encontramos na literatura nenhum trabalho que fizesse esse tipo de análise comparando-se pacientes com doença periodontal tratados e não tratados sob o ponto de vista psicoterápico, e ainda correlacionando com parâmetros clínicos periodontais e laboratoriais (cortisol e citocinas).

Como citado na metodologia, os dados relativos aos níveis de cortisol e níveis de estresse, que foram analisados na Tese de Doutorado da Psicóloga Mônica Perri Kohl Gregghi (GREGHI em 2009), foram importados para a análise nesse trabalho, onde as concentrações das citocinas foram registradas.

VII.2 – dos resultados

VII.2.1- Considerando toda a amostra

Dos 26 pacientes incluídos nessa pesquisa, 17 eram do gênero feminino (65%) e 9 do masculino (35%) (tabela 1/ figura 1); o fato de termos na amostra mais mulheres que homens era de certa forma esperado, tendo em vista que rotineiramente as mulheres sempre apresentam maior adesão, sejam quais forem os objetivos das convocações, tanto considerando programas de prevenção, terapêuticos ou mesmo de pesquisa como é o presente caso. Essa desproporcionalidade entre os gêneros certamente não trouxe prejuízos ao estudo, pois os critérios de exclusão/inclusão é que padronizaram a amostra.

Quanto à idade dos sujeitos da pesquisa, ela variou de 30 a 56 anos, com uma média de 42 anos (tabela 2 / figura2). Procurou-se nos critérios de exclusão/ inclusão estabelecer uma faixa etária entre 18 e 60 anos, excluindo os extremos; pacientes muito jovens ou muito idosos foram excluídos considerando motivos diversos como maior possibilidade de não adesão integral a todas as convocações necessárias ao estudo, maior possibilidade de problemas de saúde durante o estudo no caso dos mais idosos, instabilidades hormonais, etc.

Nenhum direcionamento especial inicial foi feito para a convocação visando a triagem dos pacientes. Todos os pacientes que estivessem dentro da faixa etária pretendida, foram examinados e aí então selecionados ou dispensados considerando os demais critérios de exclusão/inclusão.

Quanto ao tipo de doença periodontal, incluiu-se na pesquisa os indivíduos que apresentavam a patologia de forma crônica ou agressiva, respeitando-se obviamente os critérios de inclusão e exclusão; portanto não se incluiu na amostra as doenças periodontais vinculadas a alterações sistêmicas e também as doenças necrosantes. Também já era esperado que a maioria dos pacientes apresentasse a forma crônica da doença; 85% dos indivíduos selecionados exibiam a forma crônica, enquanto apenas 15% a forma agressiva da doença (tabela 3 / figura 3).

Da mesma forma, em relação à distribuição da doença, era esperado que a maioria dos indivíduos da amostra apresentasse a forma localizada, o que se verificou

na amostra selecionada: 73% apresentavam a forma localizada enquanto apenas 27% a forma generalizada (tabela 4 / figura 4).

Quanto à severidade da doença periodontal, houve um predomínio das formas branda e moderada em relação à forma avançada, o que também é mais freqüentemente observado: 46,15% dos casos apresentavam a forma moderada, 34,62% a forma branda e apenas 19,23% a forma mais severa (tabela 5/ figura 5).

Assim, de forma geral a amostra constituiu-se de casos normalmente mais prevalentes na população, o que sem dúvida passa a ser representativa, seja considerando a forma, a distribuição e a severidade da doença.

Quanto ao perfil psicológico ligado ao estresse, a análise psicológica realizada pela Psicóloga responsável, mostrou que mais da metade da amostra (15 indivíduos, ou seja, 57%) apresentava algum grau de estresse (tabela 6/figura 6).

Considerando os parâmetros periodontais, os indivíduos que compuseram a amostra apresentaram uma média na PS (profundidade de sondagem) de todos os sítios periodontais (6 sítios por dente) de todos os dentes, de 2,90 mm (tabela 7/figura 7); quando os sítios periodontais foram agrupados por padrões de profundidade, observou-se que 72,97% dos sítios apresentavam profundidade normal (1 a 3 mm), 17,18% apresentavam bolsas rasas (4 e 5 mm), 7,79% bolsas moderadas (6 e 7 mm) e apenas 2,36% dos sítios com bolsas profundas, ou seja aquelas > 7 mm. (tabela 8/figura 8). Quanto ao nível de inserção (NI) a média apresentou-se em 3,34 mm, considerando todos os sítios periodontais de todos os dentes (tabela 7/figura 7).

O escore médio do IP (índice de placa) foi de 2,44 (tabela 7/figura 7), e a distribuição dos sítios pelos escores (tabela 9/figura 9) foi proporcional para todos os escores, do escore 0 ao 5, o que mostrou um padrão de higiene muito ruim nos pacientes selecionados.

Para o IG (índice gengival) o escore médio foi de 1,50 (tabela 7/figura 7), mas também a distribuição dos sítios pelos escores (tabela 10/figura 10) mostrou que apenas 38,61 dos sítios não exibiam sinais clínicos de inflamação e que 40,61% dos sítios exibiam inflamação de moderada a severa.

O número médio de dentes perdidos por paciente foi de 3,89 (tabela 7/figura 7); enquanto 5 pacientes da amostra não haviam perdido ainda nenhum dente, o paciente que mais mostrou perdas exibiu ausência de 12 dentes.

Em relação aos exames laboratoriais, analisou-se na saliva a concentração do cortisol e das citocinas IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 e TGF- β . Os dados relativos ao cortisol

foram processados na pesquisa da Psicóloga Mônica, mas foram importados para essa pesquisa para que pudessemos avaliar possíveis correlações estatísticas com outros parâmetros.

A forma de coleta salivar seguiu um protocolo mais ligado ao cortisol, pois dependendo de como ela fosse realizada poderia de certa forma comprometer a concentração desse hormônio.

Assim os indivíduos foram convocados sempre no mesmo horário (em função do ciclo circadiano), no final da tarde, período em que há uma diminuição natural dos níveis do cortisol, eliminando assim uma grande concentração fisiológica que ocorre naturalmente pela manhã. Além disso, os pacientes ficavam em repouso pelo período de 1 h e então colhia-se a saliva em tubos eppendorf.

Optou-se por colher as amostras salivares em três dias consecutivos para se minimizar os riscos de se colher a amostra em apenas um único dia, em que talvez o paciente pudesse estar mais estressado por circunstâncias daquele momento específico. Para a análise específica das citocinas, alguns aspectos desse protocolo de coleta salivar adotado até poderia ser dispensado, mas como tratava-se das mesmas amostras então procedeu-se a essa padronização.

Todas as amostras iniciais (três) e finais (três) foram mantidas em freezer até o momento das análises em laboratório. Os níveis de cortisol tanto das coletas iniciais como finais foram representados pela média da concentração nas coletas.

As concentrações iniciais do cortisol e das citocinas estão na tabela 11/ figura 11. Cabe ressaltar que sobretudo a IL-8 apresentou concentração média muito alta (373,10 pg/ml), mas com desvio padrão também muito alto, mostrando uma grande variação entre os pacientes da amostra.

Essa concentração de IL-8, que nos chama a atenção nesses pacientes com periodontite, de certa forma encontra apoio em trabalhos na literatura. Artigo publicado pela Associação Americana de Periodontia (A.A.P.) em 1999 apontou que a IL-8 apresenta-se em altas concentrações na periodontite. Também, GIANNOPOULOU, KAMMA e MOMBELLI em 2003 mostraram em seu estudo, que a IL-8 mostra aumento significativo na doença periodontal, quando analisada no fluido gengival; ainda mostraram que a IL-8 refletia atividade destrutiva.

Ao se realizar o teste de correlação de Spearman, entre todas as variáveis apresentadas (parâmetros periodontais, níveis de estresse, nível de cortisol e níveis das citocinas) algumas correlações foram estatisticamente significantes (tabela 12).

Na amostra da pesquisa, houve correlação fortemente significativa entre PS e NI ($p=0,0001$), entre PS e IG ($p=0,0001$), entre NI e IG ($p=0,0001$) e entre NC e IL-8 ($p=0,0003$); ainda muito significantes foram as correlações entre PS e IP ($p=0,0082$), entre IP e IG ($p=0,0093$), e IP e IL-8 ($p=0,0025$); ainda bem significantes foram as correlação entre NI e IP ($p=0,014$) e entre severidade da doença e IL-8 ($p=0,021$) e ainda significativa estatisticamente foi a correlação entre NI e IL-4 ($p=0,00443$).

Algumas dessas correlações até certo ponto poderiam ser esperadas, sobretudo considerando os parâmetros clínicos periodontais, mas chamou-nos a atenção a correlação da IL-8: a concentração de IL-8 acompanhou o padrão do IP, do NC e a severidade da doença, ou seja, esteve em níveis mais altos em casos de doença mais severa, também quando a concentração de cortisol esteve alta e também quando o índice de placa esteve alto.

Mais uma vez esses dados encontram concordância na literatura, ou seja, nesses pacientes o IP era elevado e certamente a microbiota apresentava muitos patógenos periodontais e certamente a presença de endotoxinas (LPS) seja constante na área. A publicação da AAP em 1999 ressalta que a IL-8 é produzida por monócitos em resposta a fatores como LPS, IL-1 ou TNF- α . Também segundo GEMMEL, MARSHALL e SEYMOUR em 1997, a IL-8 é produzida por uma variedade de células em resposta aos microorganismos e outros mediadores e HIROSE et al em 2001, mostrou que a IL-8 aumentou em sítios nos quais se detectou o A.a..

Em nosso estudo a correlação estatística, como citado anteriormente, foi positiva entre a IL-8 e o nível de cortisol (NC), que reflete de alguma forma uma possível relação com o estresse. Em concordância com a literatura, no estudo de GIANNOPOULOU, KAMMA e MOMBELLI em 2003 também houve uma associação dos níveis de IL-8 com o estresse.

Ainda em nosso estudo houve uma associação positiva entre a IL-8 e a severidade da doença. Esse fato também encontra apoio na literatura, haja visto que o mesmo estudo de GIANNOPOULOU, KAMMA e MOMBELLI de 2003, mostrou correlação da IL-8 com a PS, assim como a pesquisa desenvolvida por TELES et al em 2009.

VII.2.2- Considerando separadamente os grupos controle e experimental

Os 26 indivíduos selecionados, que compuseram a amostra da pesquisa, foram divididos aleatoriamente em grupo controle (n=13) e grupo experimental (n=13). Para esse processo, decidiu-se que os primeiros 13 pacientes selecionados comporiam o grupo controle e os outros 13, selecionados consecutivamente, comporiam o grupo experimental; nenhum outro critério foi adotado para a distribuição dos indivíduos nos grupos.

Ao se analisar a composição dos grupos considerando o gênero (tabela 13/ figura 13), a distribuição dos indivíduos, mesmo que aleatória, exibiu características bem semelhantes, tendo o grupo controle 4 homens (30,77%) e 9 mulheres (69,23%), e o grupo experimental 5 homens (38,46%) e 8 mulheres (61,54%).

Quanto à distribuição dos pacientes em relação à idade (tabela 14/ figura 14) verificou-se que a média nos indivíduos que compuseram o grupo controle foi de 44 anos, tendo o paciente mais jovem 35 e o mais idoso 56 anos; no grupo experimental a média de idade foi de 40,2 anos, tendo o paciente mais jovem 30 e o mais idoso 50 anos. Esses dados mostram também bastante similaridade dos grupos quanto à idade.

Em relação ao tipo de doença periodontal (tabela 15/figura 15), no grupo controle, 10 indivíduos (76,92%) exibiam a forma crônica e 3 indivíduos (23,08%) a forma agressiva; no grupo experimental 12 pessoas (92,31%) tinham periodontite crônica e apenas uma (7,69%) apresentava periodontite agressiva. Esses dados mostraram que nas sub-amostras de cada grupo também houve predomínio da forma crônica da doença, também com discrepância muito pequena entre os grupos.

Ambos os sub-grupos da amostra geral, relativos aos grupos controle e experimental, mostraram-se muito similares quanto à localização da doença periodontal (tabela 16/figura 16), ou seja, no grupo controle, 10 indivíduos (76,92%) apresentavam a forma localizada da doença e 3 a forma generalizada (23,08%), enquanto no grupo experimental, 9 pacientes (69,23%) tinham a doença localizada e 4 (30,77%) a condição generalizada.

Em relação à distribuição dos indivíduos nos grupos, quanto à severidade da doença periodontal (tabela 17/figura 17), houve uma pequena discrepância; no grupo controle 6 indivíduos (46,15%) apresentavam doença branda, 5 (38,46%) eram casos moderados e 2 (15,38%) eram casos severos; já no grupo experimental, 3 casos (23,08%) eram brandos, 7 (53,85%) eram moderados e 3 (23,08%) severos.

Ao se fazer a análise quanto ao nível de estresse dos indivíduos (dados importados da Tese da Psicóloga Mônica), verificou-se que na distribuição inicial dos indivíduos nos grupos houve também uma certa similaridade (tabela 18/figura 18 e tabela 19/figura 19).

Como pode-se verificar pelos dados apresentados, embora a distribuição dos pacientes nos grupos tenha ocorrido de forma aleatória, não havendo direcionamento algum quanto aos aspectos abordados, os sub-grupos (controle e experimental) podem ser considerados muito similares. Este aspecto, associado aos aspectos anteriormente descritos, de certa forma minimiza o fato de ser ter trabalhado com um “N” não tão expressivo, por dificuldades metodológicas, como também comentado anteriormente.

Esse aspecto relativo ao nível de estresse dos pacientes mostrou-se bastante modificado no final do estudo no grupo experimental (tabela 19/figura 19), caracterizando o efeito da psicoterapia realizada nesse grupo, enquanto o grupo controle permaneceu praticamente inalterado (tabela 18/figura 18).

A tabela 20/figura 20 mostra o comportamento dos parâmetros clínicos periodontais no início e no final do experimento em ambos os grupos.

Não houve modificação estatisticamente significativa nas médias de PS e do NI em nenhum dos grupos, e isso de certa forma era até esperado devido a um período experimental curto (3 meses); salvo certas situações mais raras (casos mais agressivos), o processo de perda de inserção não ocorre de maneira tão abrupta, sendo que, o que se encontra mais comumente é um processo de perda mais lenta e certamente esse tipo de progressão não promoveria perdas suficientes no período experimental para alterar de forma estatisticamente significativa esses parâmetros. Mesmo os indivíduos incluídos na pesquisa, que apresentavam a forma agressiva, não mostraram variações clínicas importantes.

Para analisarmos melhor o comportamento da PS em ambos os grupos, no início e final do experimento, foi realizada uma distribuição dos sítios periodontais em padrões de profundidade (1-3, 4-5, 6-7 e > 7 mm) (tabela 21/ figura 21). Essa ferramenta metodológica serviu para mostrar mais claramente ainda que esse parâmetro não se alterou, pois a distribuição percentual dos sítios nos padrões de profundidade manteve-se praticamente estável nos 2 grupos.

Outro parâmetro clínico que não mostrou alteração estatisticamente significativa entre o início e o final do período experimental foi o número de dentes perdidos (NDP). No grupo controle nenhum dente foi perdido durante o estudo, enquanto no grupo

experimental 3 dentes foram perdidos; cabe ressaltar que esses dentes já eram dentes condenados, assim como muitos outros dentes de pacientes de ambos os grupos; esses 3 dentes extraídos durante o período experimental eram relativos a dois pacientes do grupo experimental que procuraram espontaneamente atendimento pelo incômodo local que esses dentes promoviam.

Embora na proposta metodológica desse trabalho constasse que nenhuma intervenção seria realizada no período experimental, eticamente não poderíamos opôr a qualquer procura de atendimento por motivos como desconforto, dor, etc.; caso ocorresse alguma intervenção que pudesse comprometer os propósitos dessa pesquisa, o paciente seria excluído da amostra. Todos os pacientes foram informados dessas condições e eles estavam cientes de que a qualquer momento por livre e espontânea vontade também poderiam se desligar da pesquisa, de forma unilateral.

Quanto ao IP, esse parâmetro mostrou alterações importantes entre o início e o final do estudo. Para o grupo controle houve uma piora estatisticamente significativa, indo de um escore médio inicial de 2,19 para 2,42 no final ($p=0,0266$), ou seja, a condição quantitativa de placa bacteriana nesse grupo foi exacerbada. Já no grupo experimental houve uma melhora muito significativa no IP, pois o escore médio 2,68 inicial baixou para 1,90 no final do estudo ($p<0,001$).

A tabela 22 / figura 22 ilustram a distribuição dos sítios quanto ao índice de placa em ambos os grupos, considerando os vários escores.

No grupo controle onde houve uma piora entre a média inicial e final, verificou-se que houve um pequeno aumento (pouco expressivo) no escore 0 (passou de 14,86% dos sítios inicialmente para 16,69% no final do estudo), houve diminuição percentual dos escores 1 e 2 (os mais brandos) e ainda houve aumento percentual nos escores mais graves, 3 e 4, sendo que o escore 5 aumentou mais que o dobro no exame final (passou de 5,01% para 11,78%). Já no grupo experimental, que exibiu melhora significativa na média geral do índice entre o início e o fim do estudo, a distribuição dos sítios pelos escores, deixa mais clara a situação: cabe mostrar que o escore 0 passou de 8,78 para 21,55% de sítios, o escore 4 diminuiu de 21,93 para 8,16% de sítios e o escore 5 diminuiu de 10,35 para 2,06% de sítios.

Portanto quanto ao índice de placa, enquanto o grupo experimental melhorou diminuindo escores mais críticos e aumentando o percentual de sítios sem placa, no grupo controle foi o inverso. Sabendo-se que nenhuma informação da condição periodontal ou preventivamente foram fornecidas aos pacientes, supõe-se que essa

melhora esteja ligada à psicoterapia, única variável incorporada no período experimental. Não cabe aqui, pois foge do nosso conhecimento, explicar como isso pode ter ocorrido; certamente pode-se especular que a motivação pode ter sido um aspecto importante, talvez pela minimização da condição do estresse. Vale ressaltar que o nível de cortisol (NC) nesse grupo experimental diminuiu de forma significativa estatisticamente (de 0,76 para 0,54 $\mu\text{g/dl}$, $p=0,002$). Como os conteúdos emocionais desses pacientes foram mobilizados, refletindo melhora nesses índices periodontais e laboratorial, não foi objeto desse trabalho, mas GREGHI em 2009 fez uma análise profunda de cada um desses pacientes dessa pesquisa, que foram os mesmos daquela, relatando os efeitos da psicoterapia em uma visão da doença periodontal pela ótica da Psicologia .

Por outro lado, curioso e até mesmo surpreendente foi o fato do grupo controle ter piorado no IP; nenhum fator que pudesse ter feito o índice de placa aumentar de forma significativa estatisticamente foi de início correlacionado, mas especula-se se o nível de estresse presente nos indivíduos desse grupo poderia ao longo do tempo ter exacerbado essa condição, talvez por desmotivação. Estudo de DEINZER et al em 2001 embasa tal pressuposto, pois esses autores mostraram que o estresse psicossocial induziu negligência na higiene bucal, aumentando o acúmulo de placa. Tal conclusão também foi estabelecida por LeRESCHÉ e DWORKIN em 2002 revisando os trabalhos da literatura.

Pesquisa de HUGO et al em 2006 na qual se avaliou os efeitos do estresse, depressão e níveis de cortisol, no acúmulo de placa bacteriana e gengivite, estabeleceu que o estresse, depressão e maiores níveis de cortisol estiveram significativamente associados com elevados níveis de placa. Ainda em 2006, JOHANNSEN et al concluíram no seu trabalho que a quantidade de placa foi maior nos sujeitos com estresse do que naqueles sem estresse.

Ao se analisar o IG (tabela 20/ figura 20), verificou-se que não ocorreu mudança estatisticamente significante no grupo controle, apesar do fato do IP ter piorado de forma significante. Isso mostra que nem sempre há uma exuberância clínica inflamatória proporcional ao acúmulo de placa; existem situações de pouco acúmulo de placa, mas com respostas clínicas inflamatórias exacerbadas e em outros casos, um grande acúmulo de placa com resposta inflamatória clínica de branda à moderada.

Já no grupo experimental, o IG inicial apresentou um escore médio de 1,60 que declinou para 1,18 no final do estudo; essa melhora foi estatisticamente muito

significativa ($p=0,0053$). Nesse grupo, a melhora no IP foi acompanhada pela melhora no IG.

A tabela 23/figura 23 ilustram a distribuição percentual de sítios em ambos os grupos em relação aos escores do índice gengival.

Nessa análise, como já explicado anteriormente, os escores 2 e 3 foram reagrupados assim como os escores 4 e 5, para se minimizar possíveis erros de interpretação que se tenha cometido na tomada dos escores. Embora tenha sido feita uma análise estatística prévia escore a escore, na distribuição dos sítios, preferimos esse reagrupamento pelo motivo explicitado.

No grupo controle, comparando-se cada escore no início e no final do estudo verifica-se que a distribuição praticamente não se alterou, com pequenas variações. Já no grupo experimental, uma análise prévia da distribuição dos sítios escore a escore evidenciou a clara melhora desse parâmetro, e mesmo o reagrupamento de escores exibiu os aspectos positivos, ou seja, o escore 0 (gengival saudável) aumentou de 33,10 para 44,99% dos sítios e o escore 4-5 (os piores) diminuiu de 16,09 para 7,74% dos sítios.

Cabe novamente lembrar que em nenhum dos grupos, nenhum comentário sobre a condição periodontal inicial ou instruções de higiene foram fornecidas aos pacientes; essas implementações foram instituídas apenas após o período experimental quando todos os pacientes foram encaminhados para tratamento imediato.

Na análise laboratorial das citocinas e cortisol salivares, a tabela 24/figura 24 ilustram as mudanças de concentrações entre o início e o final do estudo em ambos os grupos. No grupo controle só a IL-6 teve uma mudança estatisticamente significativa (aumento de 4,19 para 9,54 pg/ml), enquanto no grupo experimental não houve variação significativa para nenhuma citocina, sendo que apenas o nível de cortisol diminuiu de forma significativa (de 0,76 para 0,54 µg/dl).

Quanto ao aumento de IL-6 no grupo controle, encontramos também respaldo na literatura.

Publicação da Associação Americana de Periodontia (AAP) em 1999, mostra que os níveis de IL-6 estão aumentados nos tecidos inflamados e também na periodontite.

Trabalho de KENT, RAHEMTULLA e MICHALEK em 1999, mostraram aumento na síntese de IL-6 por fibroblastos de tecidos inflamados, estimulados por IL-1 e por LPS; certamente muita endotoxina estaria presente nos sítios inflamados dos

pacientes do grupo controle, no qual o IP agravou do início para o final do estudo. Também HIROSE et al em 2001 afirmaram que aumento de IL-6 reflete inflamação no tecido gengival.

IRWIN e al em 2002 mostraram em seu estudo um papel relevante da IL-6 na periodontite e GIANNOPOULOU, KAMMA e MOMBELLI em 2003, mostraram que níveis significantes de IL-6 no fluido gengival de pacientes com periodontite, e essas estavam associadas com atividade destrutiva periodontal.

Por outro lado como os pacientes desse grupo controle não exibiram nenhuma melhora sob o ponto de vista do estresse, e este fator pode também estar associado a um aumento significativo dos níveis de IL-6. Dando sustentação a essa especulação muitos trabalhos na literatura associam o estresse com níveis elevados de IL-6 (, DUGUÉ et al em 1996, MAES et al em 1998, HERNANDEZ et al em 2000, MENGEL, BACHER e FLORES-de JACOBY em 2002, GIANNOPOULOU, KAMMA e MOMBELLI em 2003, SUTHERLAND, ALEXANDER e HUTCHINSON em 2003, JOHANNSEN et al em 2006 e 2007, GILL, VYTHILINGAN e PAGE em 2008, PERUZZO et al em 2008 e ENTRINGER et al em 2008).

No grupo experimental, a diminuição significativa estatisticamente dos níveis de cortisol e a melhora nas condições psicossociais podem ter minimizado os efeitos na condição inflamatória periodontal. A literatura está repleta de pesquisas mostrando a ligação do estresse com condições periodontias desfavoráveis.

Mesmo no passado mais distante, KANTERMAN-1955 (in DAVIS e JENKINS em 1962) afirmou “a psique quando submetida a conflitos emocionais por longos períodos torna-se um fator importante na causa de uma cadeia de reações somáticas, que resultam em mudanças patológicas, afetando os sistemas neural, vascular e endócrino que desempenham papel importante na manutenção dos tecidos bucais”.

CROUCHER et al em 1997 concluíram que fatores psicossociais seriam importantes determinantes na periodontite e GENCO et al em 1999 encontraram que alterações psicossociais, de estresse ligados à depressão, tristeza, dificuldades financeiras seriam indicadores de risco significantes para doença periodontal mais severa em adultos.

Muitos outros trabalhos na literatura mostram a associação de fatores psicossociais com condições periodontais desfavoráveis (AXTELIUS et al em 1998, SHAPIRA et al em 1999 e 2000, ROBERTS et al em 2002, ALEKSEJUNIENE et al em 2002, HUGOSON, LJUNGQUIST e BREIVIK em 2002, VETTORE et al em 2003 e

2005, HOURI-HADDAD et al em 2003, TAKADA et al em 2004, DOLIC et al em 2005, KLAGES, WEBER e WEHRBEIN em 2005, SALETU et al em 2005, HILGERT et al em 2006, JOHANNSEN et al em 2006 e 2007, ISHISAKA et al em 2007, PERUZZO et al em 2008, ROSANIA et al em 2009).

Poucos trabalhos na literatura são divergentes quanto a esse aspecto, ou seja, não mostram ligação dos fatores psicossociais com as condições periodontais. Na pesquisa de SOLIS et al em 2004, concluiu-se que nenhuma evidência foi encontrada na associação de periodontite com variáveis psicológicas como ansiedade, depressão, estresse, desesperança e sintomas psiquiátricos; estudo de TROMBELLI et al em 2005 caracterizou o comportamento clínico gengival (gengivite experimental) considerando o perfil de personalidade, estresse e o comportamento ao estresse, e concluiu-se que as diferenças nesses parâmetros psicossociais não importaram para a variação de placa e inflamação gengival.

Já PERUZZO et al em 2007 realizaram uma revisão sistemática (artigos na língua inglesa) sobre a influência do estresse e fatores psicológicos na doença periodontal e encontraram 58 artigos, mas apenas 14 estudos preenchiam os critérios de seleção, sendo que destes apenas 14,2% (2 trabalhos) apresentavam correlação totalmente negativa.

Na presente pesquisa, aplicamos o teste de Spearman, para a verificação de possíveis correlações considerando todos os parâmetros periodontais, condições de estresse, níveis de cortisol e concentrações das diversas citocinas.

A tabela 25 ilustra no grupo controle, as correlações significantes, considerando os inúmeros cruzamentos possíveis realizados entre todas essas variáveis.

Considerando apenas as condições iniciais dos pacientes desse grupo, o teste estatístico mostrou que houve correlação entre a profundidade de sondagem (PS) e o nível de inserção (NI), o que é de certa forma lógico e esperado; ainda houve correlação entre a profundidade de sondagem e o IP e também com o IG, o que também ocorreu com o nível de inserção. Disso pode-se concluir que as condições de acúmulo de placa e de inflamação gengival estiveram diretamente ligadas à perda de inserção. Também houve correlação entre IP e IG, mostrando que a inflamação gengival esteve diretamente relacionada com o acúmulo de placa na condição inicial apresentada pelos pacientes desse grupo.

Ainda nesse grupo (controle) verificou-se que no início do estudo houve correlação do IP com a IL-8, da IL-10 com NI, da IL-10 com o grau de estresse e do nível de cortisol com a IL-6.

A correlação do IP com IL-8 talvez possa ser explicada pela alta concentração de placa nos indivíduos. Segundo publicação da AAP em 1999, a IL-8 é produzida por monócitos em resposta a vários fatores, dentre eles LPS, o que certamente ocorre nesse padrão encontrado de placa e conseqüente inflamação.

Embora não tenham sido caracterizados os patógenos presentes nesses pacientes, a literatura (HIROSE et al em 2001 e UCHIDA et al em 2001) tem mostrado aumento nos níveis de IL-8 nos sítios com detecção de A.a..

TELES et al em 2009 mostrou haver uma certa correlação entre IL-8 e sangramento à sondagem; nesse grupo experimental um grande percentual de sítios sangrantes (caracterizados pelos escores de 1 a 5) estiveram presentes.

Outro aspecto importante a ser destacado é que no trabalho de GIANOPOULOU, KAMMA e MOMBELLI em 2003, a IL-8 esteve associada com estresse; como esses pacientes mostravam inicialmente algum grau de estresse, portanto essa pode ser uma possível participação do estresse nessa correlação.

Considerando a IL-10 como uma citocina anti-inflamatória, causou certa surpresa a correlação positiva entre a IL-10 e o NI; estudos na literatura pertinente mostram maiores níveis de IL-10 associados com condições menos críticas periodontalmente. SUAREZ et al em 2004, mostrou em biópsias gengivais a expressão de IL-10 em casos de gengivite, mas não em casos de periodontite agressiva .

TELES et al em 2009 mostrou uma correlação negativa (ainda que fraca) entre IL-10 e NI e sangramento à sondagem, BOZKURT et al em 2006, mostraram maiores níveis de IL-10 nos indivíduos saudáveis que naqueles com doença periodontal crônica e HIROSE et al em 2001 mostrou que a quantidade de IL-10 diminuía nos sítios com a presença de A.a.

A correlação entre IL-10 com o grau de estresse foi negativa, ou seja, em situações de maior grau de estresse os níveis de IL-10 diminuíram e vice-versa.

Mas PERUZZO et al em 2008, mostrou que o estresse aumentou de forma significativa os níveis de IL-10, assim como o estudo de ENTRINGER et al em 2008 em mulheres com estresse pré-natal; também em sua publicação, CORREA et al em 2007 afirmaram que a maioria dos hormônios ligados ao estresse aumentam a produção

de IL-10. Por outro lado, MAES et al em 1998 mostrou que indivíduos com alta ansiedade produziram mais baixos níveis de IL-10.

Também a correlação entre o NC (nível de cortisol) e a IL-6, em nosso estudo, foi negativa e não conseguimos encontrar respaldo na literatura para esse achado.

Partindo do fato que o nível de cortisol elevado esteja ligado a condições de estresse, todos os trabalhos que encontramos estabeleceram uma condição de correlação positiva entre estresse e a IL-6 (JOHANNSEN et al em 2006 e 2007, PERUZZO et al em 2008, DUGUÉ et al em 1996, MAES et al em 1998, HERNANDEZ et al em 2000, MENGEL, BACHER e FLORES-de-JACOBY em 2002, GIANNOPOULOU, KAMMA e MOMBELLI em 2003, SUTHERLAND, ALEXANDER e HUTCHISON em 2003, GILL, VYTHILINGAN e PAGE em 2008 e ENTRINGER et al em 2008)

Considerando os dados obtidos desse grupo controle, só do final do estudo, houve correlação entre PS e NI, entre PS e IP e NI e IP; certamente PS e NI mostraram-se proporcionais, pois não houve mudanças significativas nesses aspectos no período experimental que foi curto (sem variações nas áreas com recessões ou hiperplasias). O IP esteve positivamente associado a ambos (PS e NI).

Esses dados do final do estudo no grupo controle mostraram ainda que houve correlação negativa do número de dentes perdidos (NDP) com o nível de cortisol (NC). Se o nível de cortisol reflete estresse, e a literatura mostra que o estresse está associado com piores condições peridontais, seria mais lógico esperar uma correlação positiva entre NC e NDP.

O estudo de SANDERS et al em 2007 analisou se a angústia e a tipo de reação ao estresse mediria a relação com a perda dental; os resultados mostraram que a angústia não teve relação com a perda dental, mas a forma de reação ao estresse pelos pacientes pode ser protetora contra a perda dental.

Da mesma forma que no início do estudo, nesse grupo controle, houve no final do período experimental uma preservação da correlação negativa do grau de estresse com IL-10, só que agora de forma muito pouco expressiva (fracamente significativa $p=0,00426$).

Para correlação entre TGF- β e IL-8 e a correlação entre IL-4 e IL-6 dos dados do final da pesquisa não há justificativas simples, e nenhuma publicação da literatura as explicitam; considerando a complexidade do sistema imune, com estímulos diversos, ativando células que promoveriam a liberação de citocinas, que por sua vez ativariam novas células e estas podendo expressar novas citocinas, certamente mecanismos de

reação promoveriam um aumento também dos níveis de citocinas anti-inflamatórias para tentar estabelecer um equilíbrio em relação às citocinas pró-inflamatórias presentes, ou tentar reparar o dano. Nesse sentido GEMMEL, MARSHALL e SEYMOUR afirmaram em 1997 que o TGF- β seria um inibidor de IL-1 constitutiva ou induzida.

GARLET et al em 2007 em estudo sobre a expressão de mediadores inflamatórios na movimentação ortodôntica, mostraram que os lados de pressão e tração comportam-se diferentemente na expressão de citocinas, sendo que no lado de pressão há mais expressão de TNF- α , RANKL e MMP-1, enquanto o lado de tração há maior expressão de IL-10, OPG e OCN. Isso mostra claramente a participação de citocinas pró e anti-inflamatórias concomitantes em um mesmo processo.

Nessa mesma linha, GARLET et al em 2008, analisaram os quimioatraentes para osteoclastos e osteoblastos nos lados de pressão e tração na movimentação ortodôntica; seus resultados mostraram que no lado de tensão ocorreu mais expressão para MCP-1/CCL2, MIP-1 α /CCL3 e RANKL, enquanto no lado de tração mais alta expressão de OCN; sugerindo que o padrão de quimiocinas pode contribuir no diferencial da remodelação óssea, estabelecendo micro-ambientes distintos nesses dois lados.

Publicação de GARLET em 2010, mostrou os papéis destrutivos e protetores das citocinas na doença periodontal, e que apesar da presença de altos níveis de citocinas pró-inflamatórias, citocinas tais como a IL-10 agem atenuando a resposta do hospedeiro, sobrepondo a inflamação e citocinas Th1, e também induzindo diretamente a expressão de OPG e TIMPs, contribuindo na formação óssea no ambiente periodontal.

Já considerando a variação ocorrida do início para o final do estudo, no grupo controle, houve correlação entre PS e NI, IP e IG; cabe aqui ressaltar que apesar do IP nesse grupo ter aumentado e não ter havido aumento significativo do IG, ainda assim o teste estatístico mostrou que houve associação positiva entre as variações do IP e IG.

Nesse grupo controle, o NC, embora estatisticamente não significante, diminuiu do início para o final do estudo e isso esteve correlacionado com o aumento de TGF- β , aumento esse também não significante, mas as variações de ambos mostraram correlação significativa. Assim, menor nível de cortisol, teoricamente também menor nível de estresse e então o aumento de TGF- β poderia atuar no sentido anti-inflamatório.

Nesse sentido, LU, MACKENZIE e LEVINE em 1997 mostraram em sua pesquisa o potencial regenerador do TGF- β , assim como muitos outros (GEMMEL,

MARSHALL e SEYMOUR em 1997, PEPPER em 1997, GROTENDORST em 1997, KUSHNER em 1998, LETTERIO em 2000, EJEIL et al em 2003, SANCHES-CAPELO em 2005).

Também a variação do NC esteve negativamente correlacionada com a variação da IL-4. Seguindo o mesmo raciocínio anterior, a diminuição dos níveis de cortisol pode ter propiciado a expressão de mais IL-4, também com potencial de atuação anti-inflamatória.

Também as variações ocorridas para TGF-B e IL-4 entre o início e o final do estudo, nesse grupo controle, isoladamente não foram significantes, mas houve correlação negativa das variações entre essas citocinas. Ambas as citocinas são consideradas anti-inflamatórias e à princípio essa correlação negativa parece um contra-senso, mas KUSHNER em 1998, afirma que a caracterização de uma citocina como puramente pró ou anti-inflamatória pode ser falha e segundo GEMMEL, MARSHALL e SEYMOUR em 1997, a resposta das células às citocinas depende de sua concentração, do tipo de célula e de outros reguladores, sendo que as citocinas agem em rede.

A tabela 26 ilustra no grupo experimental, as correlações significantes, considerando os inúmeros cruzamentos possíveis realizados entre todas as variáveis.

Considerando só os dados iniciais dos pacientes desse grupo, o teste estatístico mostrou que houve inicialmente associação positiva entre PS e NI, entre PS e IG, entre NI e IG. Tais correlações são normais, e diferentemente do grupo controle, nesse grupo não houve correlação inicial da PS ou do NI com IP e nem mesmo do IP com IG.

Ainda os dados do “baseline” nesse grupo experimental, mostraram correlação entre IL-6 e IL-10, embora de forma não tão intensa quanto outras correlações. Sendo uma das citocinas pró e outra anti-inflamatória, elas teriam efeitos antagônicos, mas é difícil mensurar até que ponto a presença de uma citocina poderia estimular a presença de outra de forma antagônica.

A IL-6 sendo uma citocina pró-inflamatória está mais presente nos tecidos inflamados, com maiores níveis na periodontite, estimulando a produção de osteoclastos e reabsorção óssea (AAP em 1999). Muitos outros trabalhos mostram essa ligação da IL-6 com doença periodontal (Hirose et al 2001, IRWIN et al em 2002, MC CAULEY e NOHUTCU em 2002, LIN em 2005).

De outro lado a IL-10 é caracterizada como anti-inflamatória e dentre suas ações podemos destacar sua importância na imunidade humoral, na supressão das respostas das células T a antígeno específico, inibindo a apresentação do antígeno aos macrófagos

(GEMMEL, MARSHALL e SEYMOUR em 1997), inibição de formação de osteoclastos e reabsorção óssea (GRAVES em 2008 e COCHRAN em 2008).

Novamente baseando nos conceitos de KUSHNER em 1998, esse autor afirmou que a caracterização de citocinas como pró ou anti-inflamatórias, falham em identificar moléculas puramente anti-inflamatórias e que a IL-6 comumente vista com mediador pró-inflamatório pode atualmente ser vista também como anti-inflamatória, pois o efeito de uma citocina depende do contexto no qual ela age. Ainda, segundo esse pesquisador, a síntese de IL-6 pode ser estimulada por citocinas tanto anti como pró-inflamatórias.

Analizando só os dados do final do estudo nesse grupo experimental, as correlações mantiveram-se exatamente as mesmas (PS com NI, PS com IG, NI com IG e IL-6 com IL-10).

Já considerando as variações ocorridas entre o início e o final do estudo, no grupo experimental, houve associação positiva entre PS e NI, entre TGF- β e IL-10 e negativa entre NC e IL-4.

A correlação entre as variações da PS e do NI era esperada e lógica, pois no período experimental de curta duração as recessões gengivais não se modificaram. Então as variações que ocorreram na PS, embora não estatisticamente significantes, foram acompanhadas pela variação do NI.

Chamou-nos a atenção no grupo experimental, em que ocorreu melhora nos níveis de cortisol (diminuição de forma significativa), a correlação negativa do NC e IL-4, ou seja, após o período de psicoterapia, o nível de cortisol baixando, assim como o estresse, favoreceu o aumento de IL-4 (citocina anti-inflamatória), possivelmente atuando também na melhora do índice gengival.

Trabalhos na literatura mostram os efeitos benéficos da IL-4; GEMMEL, MARSHALL e SEYMOUR em 1997 enfatizaram o papel importantes da IL-4 como a indução de proliferação de células T, a regulação negativa de receptores para IL-2, a elevação da atividade de IFN- γ , ativação de macrófagos e suas atividades anti-microbianas e diminuição na produção de IL-1, TNF- α e β e IL-6.

GIANNOPOULOU, KAMMA e MOMBELLI em 2003 afirmaram que a IL-4 reflete atividade protetora e JENKINS, JAVADI e BORGHAEI em 2004 mostraram que a IL-4 inibe a indução de MMP por IL-1 de fibroblastos gengivais em pacientes com periodontite.

PRADEEP, ROOPA e SWATI em 2008 mostraram maiores níveis de IL-4 associados à remissão ou melhora do quadro periodontal, enquanto GRAVES em 2008

e COCHRAN em 2008 mostraram que a IL-4 inibe a formação de osteoclastos e portanto inibe a reabsorção óssea.

Outra correlação importante que ocorreu nas variações entre o início e o final do estudo, nesse grupo experimental, foi entre TGF- β e IL-10. Essa correlação mostra um efeito sinérgico de citocinas anti-inflamatórias no grupo em que ocorreram melhoras no nível de cortisol, no padrão de estresse, no IP e no IG.

VII.2.3 – Considerando separadamente os indivíduos que obtiveram melhora sob o ponto de vista psicológico

Dos 26 pacientes incluídos no estudo, 7 mostraram melhora no padrão psicológico, considerando o estresse. Desses, 6 pacientes eram do grupo experimental, ou seja, pertencentes ao grupo que fora submetido à psicoterapia.

Embora o N em números absolutos, desse sub-grupo do grupo experimental (6 indivíduos) que exibiu melhora psicológica, não seja expressivo, relativamente ao N do grupo experimental (13), representou quase a metade do grupo (46,15%). Considerando que dos 13 indivíduos do grupo experimental, 4 não apresentavam estresse em nenhum grau e portanto apenas 9 deles poderiam vir manifestar melhora, assim de 9 indivíduos com algum grau de estresse, 6 melhoram o que representou um percentual de 66,66%. Os outros 3 pacientes que exibiram inicialmente estresse não se alteraram sob o ponto de vista psicológico.

Cabe ressaltar que no grupo controle, inicialmente 6 indivíduos manifestavam algum grau de estresse e 7 não apresentavam, e no final do estudo 7 indivíduos manifestavam estresse e 6 não apresentavam, sendo que 1 paciente melhorou, 2 pioraram e 10 mantiveram-se inalterados. Como apenas 1 paciente apresentou melhora sob o ponto de vista do estresse, isso representou apenas 7,69% do total do grupo, mas como apenas 6 indivíduos apresentavam algum grau de estresse, essa melhora representou 16,66%.

Diante disso, ficou claro a diferença das alterações positivas sob o ponto de vista psicológico entre os pacientes do grupo experimental e os do grupo controle (66,66% contra 16,66 respectivamente).

O único indivíduo do grupo controle (C11) que apresentou melhora no nível de estresse, era do gênero feminino, 37 anos, com doença periodontal crônica, localizada e branda, no qual os parâmetros periodontais eram mais favoráveis, houve diminuição no

nível de cortisol entre os exames inicial e final, apresentava a perda de 4 dentes e os níveis das citocinas pró-inflamatórias de (IL-6 e IL-8) eram menos críticos que o grupo controle em geral.

Diante do aspecto psicológico, realizou-se uma análise para conhecer o perfil desse pequeno sub-grupo de melhora pós- psicoterápica (6 indivíduos do grupo experimental); não se trata aqui de uma análise estatística propriamente, mas observar como esses indivíduos se enquadravam considerando os diversos aspectos abordados; embora tenha se aplicado testes estatísticos o objetivo foi especular possíveis tendências, sem querer generalizar idéias.

Considerando o gênero (tabela 27/figura 27), desses 6 sujeitos, 5 eram mulheres (83%) e apenas 1 homem (17%). Comparativamente à amostra toda (N=26) e a sub-amostra do grupo experimental (N=13) também nesses casos a maior porcentagem de indivíduos era do gênero feminino.

A faixa etária (tabela 28/figura 28) variou de 35 a 45, com média de 39,15 anos. Essa média etária foi muito semelhante quando se comparou com toda a amostra (média de 42,12 anos) e com o sub-grupo experimental (média de 40,2 anos).

Todos esses indivíduos apresentavam periodontite crônica (100%) e portanto nenhum a forma agressiva (tabela 29/figura 29); também todos os 6 indivíduos apresentavam a doença localizada (100%) e nenhum a forma generalizada (tabela 30/figura 30).

Considerando toda a amostra ou apenas o sub-grupo experimental, nesses, havia indivíduos com as formas agressiva e generalizada, mas a desproporção era muito grande favoravelmente às formas crônica e localizada. O fato de não termos nenhum indivíduo exibindo a forma agressiva e nem a condição generalizada dentre os indivíduos que obtiveram melhora (considerando o estresse), gerou questionamentos especulativos: seriam as formas mais críticas da doença periodontal (agressivas e/ou generalizadas) mais complexas e por isso nenhum caso respondeu à psicoterapia? Ou essa situação foi meramente casual, até mesmo pelo N muito reduzido? Qualquer especulação na tentativa de responde essas perguntas, nesse momento, seria mera divagação.

GREGHI em 2009, em trabalho também inédito na área da psicologia, com os mesmo indivíduos desse estudo, mostrou o efeito positivo da psicoterapia na melhora da periodontite. Os parâmetros periodontais e os níveis de cortisol, como já exposto, foram importados para esse trabalho, mas o intuito dessa pesquisadora era dar uma vertente da

psicologia ao problema odontológico e para tanto foi feita uma análise minuciosa de cada um desses indivíduos, descrevendo os eventos de cada sessão psicoterápica e analisando os aspectos individuais de cada um.

Baseado nessa pesquisa (GREGHI-2009) pudemos buscar alguns dados gerais de cada um dos pacientes que apresentavam quadros generalizados e/ou agressivos. Assim:

- Indivíduo C1- periodontite agressiva, generalizada, avançada, gênero masculino, 40 anos – o paciente apresentava grau de estresse na “fase de resistência” no exame inicial e essa condição permaneceu inalterada no exame final;
- Indivíduo C5- periodontite agressiva, generalizada, avançada, gênero masculino, 41 anos – o paciente apresentou-se sem estresse, tanto no exame inicial como no final;
- Indivíduo C12- periodontite agressiva, generalizada, moderada, gênero feminino, 43 anos – a paciente apresentou-se sem estresse, tanto no exame inicial quanto no exame final;
- Indivíduo E5 – periodontite crônica, generalizada, moderada, gênero masculino, 50 anos - o paciente não apresentava nenhum grau de estresse no exame inicial e essa condição permaneceu inalterada após a psicoterapia;
- Indivíduo E6 – periodontite crônica, generalizada, moderada, gênero masculino, 30 anos - o paciente não apresentava nenhum grau de estresse no exame inicial e essa condição permaneceu inalterada após a psicoterapia;
- Indivíduo E11- periodontite crônica, generalizada, branda, gênero feminino, 39 anos - a paciente apresentava grau de estresse de “quase exaustão” e essa condição permaneceu inalterada após a psicoterapia;
- Indivíduo E12 – periodontite agressiva, generalizada, avançada, gênero masculino, 30 anos – o paciente apresentava grau de estresse na “Fase de resistência”; essa condição permaneceu inalterada após a psicoterapia.

Mesmo com esses elementos não se pode especular sobre o assunto. Já que essa integração inter-disciplinar parece ser muito importante, talvez novas investigações, mais direcionadas possam trazer alguma luz ao problema.

Certamente esse 2 estudos (inéditos) com a mesma amostra (um com vertente psicológica e outro periodontal) trouxeram informações importantes, mas com limitações como qualquer pesquisa, deixando ainda muitos questionamentos.

Considerando a severidade da doença periodontal (tabela 31/figura 31), desse 6 pacientes, 1 apresentava a forma branda (17%), outro a forma avançada (17%) e 4

exibiam a forma moderada (66%). Tanto na análise geral da amostra (N=26), no grupo experimental (N=13) como nos 6 indivíduos do grupo experimental em particular, que melhoraram psicologicamente perante o estresse, houve um predomínio da condição doença periodontal moderada, quanto à severidade.

Considerando os parâmetros periodontais desses 6 indivíduos (tabela 32/figura 32), registrados no início e no final do período experimental, apenas o IP mostrou mudança estatisticamente significativa para melhor, sendo que a média do escore inicial era de 2,50, e no final do estudo foi de 1,82. Comparando-se a média inicial do IP desses 6 indivíduos com a média do IP inicial de toda a amostra (N=26) e do grupo experimental (N=13) verifica-se que os escores são muito próximos (2,50; 2,44 e 2,68 respectivamente)

Considerando para esses 6 indivíduos, a PS e NI praticamente não houve variação; o IG diminuiu durante o período experimental, mas não de forma significativa estatisticamente, e nenhum desses indivíduos perdeu dentes nesse período.

Ao se confrontar esses dados com a amostra toda (N=26) e com o grupo experimental (N=13) observou-se que a média inicial de PS era um pouco menor nesses 6 indivíduos (2,65 mm), contra 2,90 mm na amostra toda e 3,01 mm no grupo experimental.

Também o IG inicial desses 6 indivíduos era um pouco menor (1,40) contra 1,50 na amostra toda e 1,60 no grupo experimental.

Em relação ao NDP, nesses 6 pacientes a média era de 2,83 dentes, sendo que na amostra toda era 3,89 e no grupo experimental era 4,08. Essas médias de dentes perdidos mostraram que esses 6 pacientes com resposta positiva psicoterápica exibiam consideravelmente menos perdas dentárias no exame inicial (baseline).

Analisando as dosagens do cortisol e citocinas salivares desses 6 indivíduos (tabela 33/figura 33), nas amostras tomadas no início e no final do estudo, não se verificou mudanças estatisticamente significantes para nenhuma das citocinas avaliadas; entretanto o nível de cortisol diminuiu de forma muito significativa estatisticamente. Esse dado laboratorial (NC) implica em correlação com a melhora da condição psicológica desses indivíduos (nível de estresse).

Em relação às citocinas, embora o teste estatístico não tenha indicado significância, cabe destacar que a IL-4, considerada de forma geral, como anti-inflamatória, mostrou uma tendência ao aumento (de 5,11 para 9,63 pg/ml) e a IL-6, considerada pró-inflamatória, teve uma tendência à diminuição (de 9,46 para 3,56

pg/ml). A IL-8, considerada pró-inflamatória diminuiu e a IL-10, considerada anti-inflamatória aumentou, mas ambas de forma pouco expressivas. Como eram poucos os pacientes (N=6), o desvio padrão foi alto, denotando uma grande variação entre os indivíduos e por isso essa análise estatística teve apenas o propósito de se especular possíveis tendências.

Essa tendência em associar melhora dos níveis de cortisol, e portanto melhora nos níveis de estresse, com aumento de citocinas anti-inflamatórias e diminuição de citocinas pró-inflamatórias e vice-versa, tem subsídio na literatura (DUGUÉ et al em 1996, MAES et al em 1998, HERNANDEZ et al em 2000, MENGEL, BACHER e FLORES-de-JACOBY em 2002, JOHANNSEN et al em 2006 e 2007, PERUZZO et al em 2008, dentre outros)

As tabelas 34 e 35 ilustram os parâmetros periodontais, os níveis de citocinas, os níveis de cortisol e número de dentes perdidos, no início e no final do experimento, individualmente nesses 6 indivíduos do grupo experimental que obtiveram melhora psicoterápica.

Por essa análise individual vê-se de forma bastante clara os efeitos da psicoterapia, mostrando variações positivas entre o início e o final do estudo para a imensa maioria das variáveis. Como explicitado anteriormente, o objetivo dessa análise foi explanar as variações nesses indivíduos e não propriamente uma análise estatística, devido às limitações.

CONCLUSÃO

VIII- Conclusão

Considerando as limitações metodológicas, presentes em todas as pesquisas, podemos concluir:

1 - que houve melhora significativa no IP e no IG no grupo experimental, comparando-se dados iniciais e finais, e que quando comparado com o grupo controle essa mudança foi mais expressiva, haja visto que no grupo controle houve uma piora significativa no IP; portanto a psicoterapia interferiu direta e positivamente em parâmetros clínicos periodontais importantes;

2 – que essa melhora no IP e no IG pode ser um reflexo da melhora significativa dos níveis de estresse e de cortisol que ocorreu também só no grupo experimental;

3 – que embora os níveis de citocinas não tenham sido alterados de forma significativa, no grupo experimental houve maior tendência de diminuição das citocinas pró-inflamatórias e de aumento das citocinas anti-inflamatórias após a psicoterapia; nos indivíduos com melhor aproveitamento psicoterápico (N=6), as evidências foram mais marcantes;

4 - que a psicoterapia, minimizando níveis de estresse e o nível de cortisol, pode ter repercutido diretamente na melhora dos níveis citocinas, ainda que não significante estatisticamente (tendência), e indiretamente pela melhora no IP; e todos esses possivelmente repercutindo no IG;

6 - que o nível de cortisol elevado nos indivíduos estressados pode aumentar o risco de comprometimento ou agravamento periodontal, já que se correlacionou positivamente com citocinas pró-inflamatórias, tanto na análise de toda a amostra (IL-8), como na sub-amostra do grupo controle (IL-6);

7 - que os pacientes do grupo controle, não submetidos à psicoterapia, não apresentaram nenhuma melhora espontânea; estatisticamente o IP piorou, assim com o nível de IL-6;

8 - que o estresse pode repercutir direta e negativamente no controle da placa bacteriana, pois os indivíduos tratados com psicoterapia apresentaram melhora da condição estressante e da condição de higiene;

9 – como o grau de estresse e o nível de cortisol pareceram estar correlacionados a condições periodontais menos saudáveis, e como ambos são passíveis de serem alterados positivamente por psicoterapia, não devemos hesitar em encaminhar os pacientes com possíveis problemas psicossociais, para avaliação e atuação quando necessário, por profissionais dessa área; dentro desse campo denominado “Medicina Periodontal” a atuação multi-disciplinar se faz necessária;

10- parece haver um padrão de correlação positiva entre o nível de concentração de IL-8 e a severidade da doença periodontal

11- considerando os múltiplos dos aspectos de risco possíveis em relação à doença periodontal, o estresse não pode ser negligenciado e os pacientes devem ser instruídos adequadamente sobre sua importância na etiopatogenia da doença periodontal.

ABSTRACT

IX- Abstract

Considering the multi-factorial etiology of periodontal disease, particularly the evidence based influence of stress, this research aimed at evaluating two groups of individuals with periodontal disease. One of them was subjected to psychotherapy (experimental group N=13) during 3 months while the other served as control group (N=13); none of the groups received any curative or preventive periodontal intervention in the period.

The achieved data from both groups of individuals at baseline and at the end of the experiment (3 months) included: cytokines levels IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 and TGF- β (salivary), periodontal parameters (probing depth - PS, attachment level - NI, gingival recession, plaque index - IP, gingival index -IG) and number of lost teeth (NDP). The cortisol level (NC) and the psychological analysis of the stress level in the individuals who constituted the sample were imported from GREGHI-2009 for concurrent analysis with the other parameters. The patients were selected by respecting several inclusion and exclusion criteria.

The periodontal parameters analysis showed that there was a significant improvement of IP and IG in the experimental group and there was a significant worsening of IP in the control group. The laboratorial analysis showed that the NC diminished significantly in the experimental group and there was a significant magnification in the level of IL-6 in the control group. It is worthwhile to emphasize that even though the differences between the initial and final levels of the analyzed cytokines were not statistically significant, there was a tendency of augmentation in the anti-inflammatory cytokines levels and decrease in the pro-inflammatory cytokines levels in the experimental group.

As a final conclusion, it was accepted that the stress can negatively influence the plaque control, the elevated NC can increase the risk for periodontal breakdown, the psychotherapy can positively interfere in some clinical and laboratorial parameters leading to clinical improvement and the stress may not be neglected as a risk factor for periodontal disease.

Keywords: stress, cytokines, etiology of periodontal disease, risk factors of periodontal disease, inflammation.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

X – Referências Bibliográficas

- 1- AMERICAN ACADEMY OF PERIDONTOLOGY -ACADEMY REPORTS – Informational Paper: The pathogenesis of periodontal diseases. *J. Periodont.*, v.70, n.4, p.457-66, apr., 1.999.
- 2- ALEKSEJUNIENÈ, J. et al – Psychosocial stress, lifestyle and periodontal health. A hypothesised structural equation model. **J. Clin. Periodontol.**, v.29, p. 326-35, 2.002.
- 3- AXTELIUS, B. et al – Presence of cortisol in gingival crevicular fluid. A pilot study. **J. Clin. Periodontol.**, v.25, p. 929-32, 1.998.
- 4- AXTELIUS, B. et al – Therapy-resistant periodontitis. Psychosocial characteristics. **J. Clin. Periodontol.**, v.25, p.482-91, 1.998.
- 5- BABEL, N. Et al – Analysis of tumor necrosis factor- α , transforming growth factor- β , interleukin-10, interleukin-6, and interferon- γ gene polymorphisms in patients with chronic periodontitis. **J. Periodontol.**, v.77, n.12, p.1978-83, dec.,2.006
- 6- BENATTI, B.B. et al – Stress may enhance nicotine effects on periodontal tissues. An in vivo study in rats. **J. Periodont. Res.**, v. 38, p. 351-3, 2.003.
- 7- BOYAPATI, L.; WANG, H.-L. – The role of stress in periodontal disease and wound healing. **Periodontol.** 2000, v. 44, p. 195-210, 2.007.
- 8- BOZKURT, F.Y. et al – Anti-inflammatory cytokines in gingival crevicular fluid in patients with periodontitis and rheumatoid arthritis: a preliminary report. **Cytokine**, v. 35, p.180-5, 2.006.
- 9- BOZKURT, F.Y. et al – Relationship between interleukin-6 levels in gingival crevicular fluid an periodontal status in patients with rheumatoid arthritis and adult periodontitis. **J. Periodontol.**, v.71, n.11, p.1756-60, nov.,2.000.
- 10- BREIVIK, T. et al – Differential susceptibility to periodontitis in genetically selected wistar rat lines that differ in their behavioral and endocrinological response to stressors. **Behavior Genetics**, v.30, n.2, p.12330, 2.000.
- 11- CHAMPAIBOOM, C. et al – The immune modulation of B-cell responses by *Porphyromonas gingivalis* and interleukin-10. **J. Periodontol.**, v.71, n.3, p.468-75, Mar., 2.000.
- 12- CHANG, Y-C et al – Regulation of matrix metalloproteinase production by cytokines, pharmacological agents and periodontal pathogens in human periodontal ligament fibroblast cultures. **J. Periodont. Res.**, v.37, p. 196-203, 2.002.

- 13- CHEN, W.; WAHL, S.M. – TGF- β : the missing link in CD4+ CD25+ regulatory T cell-mediated immunosuppression. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v.14, p.85-9, 2.003.
- 14- CHIOU, L.-J. et al – The association of psychosocial factors and smoking with periodontal health in a community population. **J. Periodont. Res.**, p. 1-7, 2.009.
- 15- COCHRAN, D.L. – Inflammation and bone loss in periodontal disease. **J. Periodontol.**, v.79, n.8 (suppl.), p.1569-76, Aug., 2.008.
- 16- CORREA, S.G. et al – Cytokines and the immune-neuroendocrine network: What did we learn from infection and autoimmunity? **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v.18, p.125-34, 2.007.
- 17- CROUCHER, R. et al – The relationship between life-events and periodontitis. **J. Clin. Periodontol.**, v. 24, p. 39-43, 1.997.
- 18- CULLINAN, M.P. et al – Progression of periodontal disease and interleukin-10 gene polymorphism. **J. Periodont. Res.**, v. 43, p. 328-33, 2.008.
- 19- DAVIS, C.H; JENKINS, C.D. – Mental stress and oral diseases. **J. Dent. Res.**, v.41, n.5, p.1045-9, oct, 1.962.
- 20- DEINZER, R. et al – Effects of academic stress on oral hygiene – a potential link between stress and plaque-associated disease? **J. Clin. Periodontol.**, v. 28, p.459-64, 2.001.
- 21- DOLIC, M. et al – Psychosocial factors as risk indicators of periodontitis. **J. Clin. Periodontol.**, v. 32, p. 1134-40, 2.005.
- 22- DUGUÉ, B. et al – Cytokines in saliva. Basal concentrations and the effect of high ambient heat (sauna). **Stress Med.**, v.12, p.193-7, 1.996.
- 23- EJEIL, A.L. et al – Are cytokines linked to collagen breakdown during periodontal disease progression? **J. Periodontol.**, v.74, n.2, p. 196-201, Feb, 2.003.
- 24- ELLIS, S.D. et al – Factors for progression of periodontal diseases. **J. Oral Pathol. Med.**, v. 27, p. 101-5, 1.998.
- 25- ENTRINGER, S. et al – Influence of prenatal psychosocial stress on cytokine production in adult woman. **Dev. Psychobiol.**, v.50, p.579-87, 2.008.
- 26- GARLET et al – Cytokine expression pattern in compression and tension sides of the periodontal ligament during orthodontic tooth movement in humans. **Eur. J. oral Sci**, v. 115, p. 355-62, 2007.
- 27- GARLET et al – Differential expression of osteoblast and osteoclast chemmoatractants in compression and tension sides during orthodontic movement. **Cytokine**, v. 42, p. 330- 5, 2008.

- 28- GARLET, G.P. – Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. **J. Dent. Res.**, in press., 2010.
- 29- GEMMELL, E.; MARSHALL, R.I.; SEYMOUR, G.J. – Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. **Periodontology** **2.000**, v.14, p.112-43, 1.997.
- 30- GEMMELL, E.; SEYMOUR, G.J. – Immunoregulatory control of Th1/Th2 cytokine profiles in periodontal disease. **Periodontology** **2000**, v. 35, p. 21-41, 2.004.
- 31- GENCO, R.J. et al – Relationship of stress, distress, and inadequate coping behaviors to periodontal disease. **J. Periodontol.**, v.70, n. 7, p.711-23, Jul., 1.999.
- 32- GIANNOPOULOU, C. ; KAMMA, J.J.; MOMBELLI, A. – Effect of inflammation, smoking and stress on gingival crevicular fluid cytokine level. **J. Clin. Periodontol.**, v. 30, p. 145-53, 2.003.
- 33- GILL, J.; VYTHILINGAN, M. ; PAGE, G.G. – Low cortisol, high DHEA, and high levels of stimulated TNF- α , and IL-6 in Woman with PTSD. **J. Traumatic Stress**, v. 21, n.6, p.530-9, Dec., 2.008.
- 34- GRAVES, D. – Cytokines that promote periodontal tissue destruction. **J. Periodontol.**, v.79, n.8 (suppl.), p.1585-91, Aug., 2.008.
- 35- GREGHI, M.P.K. Os efeitos de uma intervenção psicoterápica breve Junguiana em um grupo de portadores de doença periodontal. Tese Doutorado. Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, São Paulo, 2009.
- 36- GROTENDORST, G.R. – Connective tissue growth factor: a mediator of TGF- β action on fibroblasts. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v.8, n.3, p.171-9, 1.997.
- 37- HAVEMOSE-POULSEN, A. et al – Cytokine profiles in Peripheral blood and whole blood cell cultures associated with aggressive periodontitis, juvenile idiopathic arthritis, and rheumatoid arthritis. **J. Periodontol.**, v. 76, n.12, p.2276-85, dec., 2.005.
- 38- HERNÁNDEZ, J. et al – Metallothionein induction by restraint stress: role of glucocorticoids and IL-6. **Cytokine**, v.12, n.6, p.791-6, Jun., 2.000.
- 39- HILGERT, J.B. et al – Stress, cortisol, and periodontitis in a population aged years and over. **J. Dent. Res.**, v.85, n.4, p.324-8, 2.006.
- 40- HIROSE, M. et al – Expression of cytokines and inducible nitric oxide synthase in inflamed gingival tissue. **J. Periodontol.**, v.72, n.5, p.590-7, May, 2.001.

- 41- HOURI-HADDAD, Y. et al – The effect of chronic emotional stress on the humoral immune response to *Porphyromonas gingivalis* in mice. **J. Periodont. Res.**, v.38, p.204-9, 2.003.
- 42- HUGO, F.N. et al – Chronic stress, depression, and cortisol levels as risk indicators of elevated plaque and gingivitis levels in individuals aged 50 years and older. **J. Periodontol.**, v. 77, n.6, p.1008-14, Jun, 2.006.
- 43- HUGOSON,A.; LJUNGQUIST,B. ; BREIVIK,T. – The relationship of some negative events and psychosocial factors to periodontal disease in an adult swedish population 50 to 80 years of age. **J. Clin. Periodontol.**, v.29, p. 247-53, 2.002.
- 44- IRWIN, C.R. et al – The role of soluble interleukin (IL)-6 receptor in mediating the effects of IL-6 on matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 expression by gingival fibroblasts. **J. Periodontol.**, v.73, n. 7, p. 741-7, Jul., 2.002.
- 45- ISHISAKA, A. et al – Association of salivary levels of cortisol and dehydroepiandrosterone with periodontitis in older japanese adults. **J. Periodontol.**, v.78, n.9, p.1767-73, Sep, 2.007.
- 46- JENKINS, K.; JAVADI, M.; BORGHAEI, R.C. – Interleukin-4 suppresses IL-1-induced expression of matrix metalloproteinase-3 in human gingival fibroblasts. **J Periodontol.**, v.75, n.2, p. 283-91, Feb., 2.004.
- 47- JOHANNSEN, A. et al- Dental plaque, gingival inflammation, and elevated levels of interleukin-6 and cortisol in gingival crevicular fluid from woman with stress-related depression and exhaustion. **J. Periodontol.**, v. 77, n.8, p. 1403-9, Aug, 2.006.
- 48- JOHANNSEN, A. et al – Gingival inflammation, increased periodontal pocket depth and elevated interleukin-6 in gingival crevicular fluid of depressed woman on long-term sick leave. **J. Periodont. Res.**, v.42, p. 546-52, 2.007.
- 49- KAMMA, J.J. et al – Cytokine profile in gingival crevicular fluid of aggressive periodontitis: influence of smoking and stress. **J. Clin. Periodontol.**, v. 31, p. 894-902, 2.004.
- 50- KENT, L.W.; RAHEMTULLA,F.; MICHALEK, S.M. – Interleukin (IL)-1 and *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide stimulation of IL-6 production by fibroblasts derived from health or periodontally diseased human gingival tissue. **J. Periodontol.**, v. 70, n.3, p.274-82, Mar, 1.999.
- 51- KIM, Y.K.; MAES,M. – The role of the cytokine network in psychological stress. **Acta Neuropsychiatrica**, v.15, p. 148-55, 2.003.
- 52- KLAGES,U.; WEBER,A.G.; WEHRBEIN,H. – Approximal plaque and gingival sulcus bleeding in routine dental care patients: relations to life stress, somatization and depression. **J. Clin. Periodontol.**, v.32, p. 575-82, 2.005.

- 53-KLOOSTRA, P.W.; EBER, R.M.; INGLEHART, M.R. – Anxiety, stress, depression, and patients' responses to periodontal treatment: periodontists' knowledge and professional behavior. **J. Periodontol.**, v.78, n.1, p. 64-71, Jan., 2.007.
- 54- KORNMAN, K.S. – Mapping the pathogenesis of periodontitis: a new look. **J. Periodontol.**, v.79, n.8, p.1560-8, aug., 2.008.
- 55-KUSHNER, I. – Semantics, inflammation, cytokines and common sense. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v.9, n.3/4, p.191-6, 1.998.
- 56-LERESCHE, L.; DWORKIN, S.F. – The role of stress in inflammatory disease, including periodontal disease: review of concepts and current findings. **Periodontology 2000**, v. 30, p.91-103, 2.002.
- 57- LETTERIO, J.J. – Murine models define the role of TGF- β as a master regulator of immune cell function. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v.11, p. 81-7, 2.000.
- 58- LIN, S.-J. et al – Measurement of gp130 cytokines- oncostatin M and IL-6 in gingival crevicular fluid of patients with chronic periodontitis. **Cytokine**, v.30, p.160-7, 2.005.
- 59- LOE et al – Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age. **J. Clin. Periodont.**, v.13, p.431-45, 1986.
- 60- LOZOVAYA, N.; MILLER, A.D. – Chemical neuroimmunology: health in a nutshell. Bidirectional communication between immune and stress (limbic-hypothalamic-pituitary-adrenal) systems. **ChemBioChem.**, v. 4, p. 466-84, 2003.
- 61-LU,H.; MACKENZIE, I.C.; LEVINE, A.E. – Transforming growth factor- β response and expression in junctional and oral gingival epithelial cells. **J. Periodont. Res.**, v.32, p. 682-91, 1.997.
- 62-McCAULEY, L.K.; NOHUTCU, R.M. – Mediators of periodontal osseous destruction and remodeling: principles and implications for diagnosis and therapy. **J. Periodontol.**, v. 73, n.11, p. 1377-91, Nov., 2.002.
- 63-MAES, M. et al – The effects of psychological stress on humans: increased production of pro-inflammatory cytokines and a Th1-like response in stress-induced anxiety. **Cytokine**, v. 10, n.4, p.313-8, Apr., 1.998.
- 64- MENGEL, R.; BACHER, M.; FLORES-DE-JACOBY,L. – Interactions between stress, interleukin-1 β , interleukin-6 and cortisol in periodontally diseased patients. **J. Clin Periodontol.**, v. 29, p. 1012-22, 2.002.

- 65-MITSUYAMA, K.; SATA, M.; ROSE-JOHN, S. – Interlukin-6 trans-signaling in inflammatory bowel disease. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v.17, p. 451-61, 2.006.
- 66-MONTEIRO DA SILVA, A.M. et al – Psychosocial factors and adult onset rapidly progressive periodontitis. **J. Clin. Periodontol.**, v. 23, p. 789-94, 1.996.
- 67-MONTEIRO DA SILVA, A.M. et al – Psychosocial factors, dental plaque levels and smoking in periodontitis patients. **J. Clin. Periodontol.**, v. 25, p. 517-23, 1.998.
- 68-MOSER, B. et al – Chemokines: multiple levels of leucocyte migration control. **Trends in Immunology**, v. 25, n.2, p.75-84, Feb., 2.004.
- 69-NAKAJIMA, K. et al – Restraint stress enhances alveolar bone loss in an experimental rat model. **J. Periodont. Res.**, v. 41, p. 527-34, 2.006.
- 70-NARUISHI, K. et al – Role of soluble interleukin-6 receptor in inflamed gingiva for binding of interleukin-6 to gingival fibroblasts. **J. Periodont. Res.**, v.34, p. 296-300, 1.999.
- 71-NG, S.K.S.; LEUNG, W.K. – A communiy study on the relationship between stress, coping, affective dispositions and periodontal attachment loss. **Community Dent. Oral Epidemiol.**, v. 34, p. 252-66, 2.006.
- 72-PAGE, R.C. et al – Advances in pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. **Periodontology** 2000, v.14, p. 216-48, 1.997.
- 73-PEPPER, M.S. – Transforming growth factor-beta: vasculogenesis, angiogenesis, and vessel wall integrity. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v.8, n.1, p.21-43, 1.997.
- 74-PERUZZO, D.C. et al – A systematic review of stress and psychological factors as possible risk factors for periodontal disease. **J. Periodontol.**, v. 78, n.8, p. 1491-504, Aug, 2.007.
- 75-PERUZZO, D.C. et al – Chronic stress may modulate periodontal disease: a study in rats. **J. Periodontol.**, v. 79, n.4, p. 697-704, Apr, 2.008.
- 76-PRADEEP, A.R.; ROOPA, Y.; SWATI, P.P. – Interlukin-4, a T-helper 2 cell cytokine, is associated with the remission of periodontal disease. **J. Periodont. Res.**, v. 43, p. 712-6, 2.008.
- 77-QUIGLEY, G. ; HEIN, J. – Comparative cleansing efficiency of manual and power brushing. **J. Am. Dent. Assoc.**, v.65, p. 26, 1962.
- 78-RAI, B. et al – Salivary stress markers, stress and periodontitis: a pilot study. **J. Periodontol.**, 19/08/2010 [epud ahead of print].

- 79-RENNERS, M.; BRECX, M. – Stress and periodontal disease. **Int. J. Dent. Hygiene**, v. 5, p. 199-204, 2.007.
- 80-RESCALA, B. et al – Immunologic and microbiologic profiles of chronic and aggressive periodontitis subjects. **J. Periodontol.**, v.81, n.9, p. 1308-16, Sept, 2010.
- 81-ROBERTS, A. et al – Stress and the periodontal diseases: effects of catecholamines on the growth of periodontal bacteria in vitro. **Oral Microbiol. Immunol.**, v. 17, p.296-303, 2.002.
- 82-ROSANIA, A.E. et al – Stress, depression, cortisol, and periodontal disease. **J. Periodontol.**, v. 80, n.2, p. 260-6, Feb, 2.009.
- 83-SALETU, A. et al – Controlled clinical and psychometric studies on the relation between periodontitis and depressive mood. **J. Clin. Periodontol.**, v.32, p. 1219-35, 2.005.
- 84-SALVI, G.E. et al – Influence of risk factors on the pathogenesis of periodontitis. **Periodontology** 2000, v.14, p.173-201, 1.997.
- 85-SALVI, G.E. et al – Inflammatory mediators of the terminal dentition in adult and early onset periodontitis. **J. Periodont. Res.**, v.33, p. 212-25, 1.998.
- 86-SÁNCHEZ-CAPELO, A. – Dual role for TGF- β 1 in apoptosis. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 16, p. 15-34, 2.005.
- 87-SANDERS. A.E. et al – Does psychological stress mediate social deprivation in tooth loss? **J. Dent Res.**, v. 86, n. 12, p. 1166-70, 2.007
- 88-SHAPIRA, L. et al – The effect of stress on the inflammatory response to *Porphyromonas gingivalis* in a mouse subcutaneous chamber model. **J. Periodontol.**, v. 70, n.3, p. 289-93, Mar, 1.999.
- 89-SHAPIRA, L. et al – Experimental stress suppresses recruitment of macrophages but enhanced their *P. Gingivalis* LPS-stimulated secretion of nitric oxide. **J. Periodontol.**, v. 71, n.3, p. 476-81, Mar, 2.000.
- 90-SOLIS, A.C.O. et al – Association of periodontal disease to anxiety and depression symptoms, and psychosocial stress factors. **J. Clin. Periodontol.**, v. 31, p. 633-8, 2.004.
- 91-SUÁREZ, L.J. et al – Relative proportions of T-cell subpopulations and cytokines that mediate and regulate the adaptive immune response in patients with aggressive periodontitis. **J. Periodontol.**, v. 75, n.9, p. 1209-15, Sep., 2.004.

- 92-SUMER, A.P. et al – Association of interleukin-10 gene polymorphisms with severe generalized chronic periodontitis. **J. Periodontol.**, v. 78, n.3, p.493-7, Mar., 2.007.
- 93-SUTHERLAND, A.G.; ALEXANDER, D.A.; HUTCHISON, J.D. – Disturbance of pro-inflammatory cytokines in post-traumatic psychopathology. **Cytokine**, v. 24, p. 219-25, 2.003.
- 94-TAKADA, T. et al – Effect of restraint stress on the progression of experimental periodontitis in rats. **J. Periodontol.**, v. 75, n.2, p. 306-15, Feb, 2.004.
- 95-TAYLOR, J.J.; PRESHAW, P.M.; DONALDSON, P.T. – Cytokine gene polymorphism and immunoregulation in periodontal disease. **Periodontology** 2000, v. 35, p.158-82, 2.004.
- 96-TELES, R.P. et al – Salivary cytokine levels in subjects with chronic periodontitis and in periodontally healthy individuals: a cross-sectional study. **J. Periodont. Res.**, v.44, p.411-7, 2.009.
- 97-TENG, H.-C. et al – Lifestyle and psychosocial factors associated with chronic periodontitis in taiwanese adults. **J. Periodontol.**, v.74, n.8, p. 1169-75, Aug., 2.003.
- 98-TROMBELLI, L. et al – Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis: effects of personality traits, social support and stress. **J. Clin Periodontol.**, v. 32, p. 1143-50, 2.005.
- 99-TURESKY, S.; GILMORE, N.D.; GLICKMAN, I. – Reduced plaque formation by the chrolomethyl analogue of victamine C. **J. Periodontol**, v. 41, p. 41, 1970.
- 100-UCHIDA, Y. et al – Expression of IL-1 β and IL-8 by human gingival epithelial cells in response to *Actinobacillus Actinomycetemcomitans*. **Cytokine**, v.14, n.3, p.152-61, May, 2.001.
- 101-VETTORE, M.V. et al – The relationship of stress and anxiety with chronic periodontitis. **J. Clin. Periodontol.**, v. 30, p. 394-402, 2.003.
- 102- VETTORE, M. et al – The influence of stress and anxiety on the response of non-surgical periodontal treatment. **J. Clin. Periodontol.**, v. 32, p. 1226-35, 2.005.
- 103- YAMAMOTO, M. et al – Molecular and celular mechanisms for periodontal diseases: role of th1 and th2 type cytokines in induction of mucosal inflammation. **J. Periodont. Res.**, v. 32, p. 115-9, 1.997.
- 104- WIMMER, G. et al – Coping with stress: its influence on periodontal disease. **J. Periodontol.**, v. 73, n.11, p. 1343-51, Nov., 2.002.
- 105- WIMMER, G et al – Coping with stress: its influence on periodontal therapy. **J. Periodontol.**, v. 76, n.1, p. 90-8, Jan., 2.005.

XI – Anexos

Dados Gerais				Dados Periodontais (Média)												
Codigo	Sexo	Idade	Grupo	Tipo de Doença Periodontal	Extensão da doença	Severidade	MPSI	MPSI	MNI	MNI	MPI	MPI	MIGI	MIGI	NDPI	NDPI
C01	M	40	C	agressiva	generalizada	avançada	4,86	5,35	5,51	6	2,95	3,25	3,15	3,22	1	1
C02	F	47	C	crônica	localizada	moderada	2,41	2,31	2,64	2,53	2,02	2,02	0,73	0,78	1	1
C03	M	38	C	crônica	localizada	branda	2,76	2,57	3,29	3,1	2,51	2,29	1,9	1,37	7	7
C04	F	38	C	crônica	localizada	branda	2,74	2,71	2,74	2,71	1,85	2,54	0,45	0,6	0	0
C05	M	41	C	agressiva	generalizada	avançada	3,56	4,35	4,36	5,15	2,84	3,22	1,99	2,49	5	5
C06	F	53	C	crônica	localizada	branda	2,39	2,25	3,11	2,97	2,04	1,83	1,44	1,18	8	8
C07	F	35	C	crônica	localizada	branda	1,74	1,8	1,94	2	1,93	2,3	0,72	0,86	7	7
C08	F	51	C	crônica	localizada	moderada	2,96	3,17	3,45	3,67	2,17	2,89	1,88	1,61	6	6
C09	F	43	C	crônica	localizada	moderada	2,85	2,91	3,06	3,13	2,44	2,38	1,69	1,23	7	7
C10	M	56	C	crônica	localizada	moderada	2,31	2,14	2,87	2,7	2,2	2,49	0,87	0,83	0	0
C11	F	37	C	crônica	localizada	branda	2,13	2,11	2,17	2,16	1,38	1,95	1,13	1,28	4	4
C12	F	43	C	agressiva	generalizada	moderada	2,92	3,43	4,58	5,09	2,8	2,93	1,19	1,24	0	0
C13	F	50	C	crônica	localizada	branda	2,7	2,65	3,81	3,77	1,38	1,34	0,94	0,76	2	2
E01	M	47	E	crônica	localizada	avançada	2,4	2,08	3,01	2,08	2,4	1,9	0,93	0,31	8	11
E02	F	40	E	crônica	localizada	moderada	3,43	2,77	3,6	2,94	2,4	1,92	1,28	0,81	4	4
E03	F	45	E	crônica	localizada	branda	2,56	2,2	2,63	2,28	2,7	1,47	0,46	0,51	2	2
E04	F	42	E	crônica	localizada	avançada	2,69	2,59	3,38	3,17	2,38	1,54	1,4	0,92	4	4
E05	M	50	E	crônica	generalizada	moderada	4,17	4,49	4,55	4,88	3,72	2,34	2,23	2,85	6	6
E06	M	30	E	crônica	generalizada	moderada	3,68	3,51	3,74	3,57	2,16	1,6	2,68	1,56	4	4
E07	F	47	E	crônica	localizada	moderada	3,56	3,88	3,68	4	2,23	1,8	1,64	1,51	4	4
E08	M	37	E	crônica	localizada	moderada	3	3,47	3,62	4,09	3,26	2,41	2,01	1,49	2	2
E09	F	36	E	crônica	localizada	moderada	3,19	3	3,22	3,03	2,13	1,3	2,18	1,46	5	5
E10	F	35	E	crônica	localizada	moderada	1,66	2,03	2,14	2,51	2,44	1,87	0,79	0,27	2	2
E11	F	39	E	crônica	generalizada	branda	3,07	2,97	3,31	3,21	3,28	2,29	2,11	1,59	0	0
E12	M	30	E	agressiva	generalizada	avançada	3,86	3,86	4,41	4,24	3,33	2,4	2,41	1,49	12	13
E13	F	45	E	crônica	localizada	branda	1,9	1,97	1,98	2,05	2,4	1,87	0,73	0,62	0	0

Codigo	Dados Periodontais - Profundidade de Sondagem (%)				Dados Periodontais - Profundidade de Sondagem (%)			
	PSI1-3	PSI4-5	PSI6-7	PSI>7	PSI1-3	PSI4-5	PSI6-7	PSI>7
C01	35,19	27,78	22,84	14,2	31,48	24,07	22,84	21,6
C02	82,72	12,35	4,32	0,62	82,1	12,96	4,32	0,62
C03	81,75	12,7	4,76	0,79	87,3	8,73	3,97	0
C04	77,98	16,67	5,36	0	86,31	11,31	2,38	0
C05	52,17	30,43	14,49	2,9	39,13	25,36	27,54	7,97
C06	85,83	13,33	0,83	0	88,33	11,67	0	0
C07	99,21	0,79	0	0	99,21	0,79	0	0
C08	69,7	24,24	5,3	0,76	63,64	31,06	5,3	0
C09	76,19	13,49	9,52	0,79	75,4	11,11	11,9	1,59
C10	84,52	13,69	1,79	0	88,1	11,9	0	0
C11	87,5	11,11	1,39	0	86,81	11,11	2,08	0
C12	67,26	25	6,55	1,19	55,36	32,74	11,9	0
C13	70,51	28,85	0,64	0	79,49	18,59	1,92	0
E01	90	5,83	3,33	0,83	98,04	1,96	0	0
E02	63,19	23,61	9,03	4,17	78,47	11,81	6,25	3,47
E03	82,05	12,18	5,13	0,64	88,46	11,54	0	0
E04	74,31	13,89	10,42	1,39	76,39	11,81	9,72	2,08
E05	46,21	20,45	21,97	11,36	46,97	20,45	18,94	13,64
E06	52,08	35,42	11,11	1,39	55,56	30,56	13,89	0
E07	59,72	18,06	13,89	8,33	54,86	20,14	16,67	8,33
E08	76,92	14,74	6,41	1,92	65,38	22,44	5,77	6,41
E09	71,01	12,32	10,87	5,8	71,01	11,59	12,32	5,07
E10	96,15	3,21	0,64	0	96,79	2,56	0,64	0
E11	67,86	29,76	2,38	0	71,43	26,79	1,79	0
E12	48,96	25	21,88	4,17	48,89	30	17,78	3,33
E13	98,21	1,79	0	0	95,83	4,17	0	0

Codigo	Dados Periodontais - Índice de Placa (%)						Dados Periodontais - Índice de Placa (%)					
	IPi-0	IPi-1	IPi-2	IPi-3	IPi-4	IPi-5	IPf-0	IPf-1	IPf-2	IPf-3	IPf-4	IPf-5
C01	5,55	12,03	21,29	23,14	18,51	19,44	11,11	8,33	11,11	18,51	15,74	35,18
C02	13,88	25	23,14	23,14	12,96	1,85	30,55	5,55	26,85	13,88	14,81	8,33
C03	15,47	9,52	16,66	29,76	23,8	4,76	14,28	17,85	19,04	30,95	9,52	8,33
C04	15,17	13,39	45,53	23,21	2,67	0	13,39	6,25	25,89	30,35	16,07	8,03
C05	3,26	7,6	27,17	34,78	18,47	8,69	6,52	3,26	16,3	30,43	22,82	20,65
C06	16,25	8,75	47,5	15	7,5	5	26,25	12,5	26,25	25	7,5	2,5
C07	21,42	19,04	22,61	23,8	8,33	4,76	13,09	15,47	34,52	11,9	15,47	9,52
C08	13,63	17,04	28,41	21,59	18,18	1,13	4,54	13,63	21,59	25	19,31	15,9
C09	13,09	17,85	21,42	16,66	21,42	9,52	15,47	5,95	27,38	33,33	11,9	5,95
C10	11,6	15,17	30,35	29,46	11,6	1,78	11,6	9,82	25,89	30,35	15,17	7,14
C11	23,95	22,91	46,87	4,16	2,08	0	23,95	12,5	36,45	7,29	11,45	8,33
C12	5,35	8,03	25,89	28,57	25,89	6,25	11,6	8,03	19,64	18,75	20,53	21,42
C13	34,61	20,19	26,92	11,53	4,8	1,92	34,61	22,11	22,11	19,23	0	1,92
E01	17,5	11,25	16,25	31,25	16,25	7,5	22,05	10,29	33,82	25	7,35	1,47
E02	8,33	14,58	26,04	32,29	17,7	1,04	19,79	11,45	37,5	21,87	7,29	2,08
E03	3,84	16,34	23,07	25	25,96	5,76	24,03	26,92	30,76	14,42	3,84	0
E04	15,62	12,5	26,04	16,66	22,91	6,25	30,2	14,58	35,41	12,5	5,2	2,08
E05	0	4,54	17,04	19,31	20,45	38,63	12,5	5,68	37,5	28,4	11,36	4,54
E06	12,5	16,66	32,29	25	8,33	5,2	25	14,58	41,66	15,62	0	3,12
E07	11,45	17,7	28,12	21,87	20,83	0	21,87	13,54	31,25	29,16	4,16	0
E08	0,96	14,42	7,69	25,96	36,53	14,42	13,46	4,8	25	41,34	14,42	0,96
E09	26,08	16,3	13,04	15,21	21,73	7,6	40,21	17,39	19,56	18,47	3,26	1,08
E10	0	20,19	34,61	27,88	15,38	1,92	18,27	13,46	43,26	15,38	7,69	1,92
E11	9,82	8,92	12,5	17,85	14,28	36,6	17,85	4,46	31,25	27,67	15,17	3,57
E12	0	6,25	17,18	21,87	46,87	7,81	11,66	8,33	33,33	25	18,33	3,33
E13	8,03	18,75	19,64	33,92	17,85	1,78	23,21	9,82	37,5	18,75	8,03	2,67

Codigo	Dados Periodontais - Índice de Gengival (%)				Dados Periodontais - Índice de Gengival (%)			
	IGI-0	IGI-1	IGI-2/3	IGI-4/5	IGf-0	IGf-1	IGf-2/3	IGf-4/5
C01	14,81	6,17	26,54	52,47	14,81	4,32	29,01	51,85
C02	50	29,63	20,37	0	51,85	24,07	24,07	0
C03	19,84	13,49	57,94	8,73	34,92	12,7	50,79	1,59
C04	76,19	11,31	9,52	2,98	65,48	14,29	20,24	0
C05	27,54	13,77	39,13	19,57	18,84	13,04	39,86	28,26
C06	35	16,67	40,83	7,5	51,67	12,5	27,5	8,33
C07	46,83	35,71	17,46	0	46,83	29,37	23,81	0
C08	21,97	23,48	35,61	18,94	31,06	11,36	51,52	6,06
C09	32,54	17,46	34,92	15,08	36,51	33,33	22,22	7,94
C10	49,4	26,79	22,02	1,79	60,71	9,52	27,38	2,38
C11	46,53	21,53	24,31	7,64	40,67	20,83	30,56	7,64
C12	34,52	30,36	33,33	1,79	34,52	19,05	46,43	0
C13	46,79	23,72	27,56	1,92	53,21	27,56	17,95	1,28
E01	42,5	31,67	25,83	0	77,45	15,69	6,86	0
E02	31,25	31,94	34,72	2,08	51,39	22,22	26,39	0
E03	65,38	23,72	10,9	0	64,74	23,72	11,54	0
E04	44,44	18,75	19,44	17,36	51,39	20,83	26,39	1,39
E05	23,48	18,94	26,52	31,06	13,64	15,15	29,55	41,67
E06	13,89	9,03	43,06	34,03	32,64	15,28	41,67	10,42
E07	36,11	21,53	22,92	19,44	38,89	15,97	31,94	13,19
E08	27,56	17,31	32,05	23,08	33,33	21,15	34,62	10,9
E09	28,99	14,49	23,91	32,61	43,48	11,59	33,33	11,59
E10	34,62	54,49	10,26	0,64	75,64	21,79	2,56	0
E11	15,48	14,88	54,17	15,48	20,83	23,81	49,4	5,95
E12	20,83	12,5	33,33	33,33	25,56	25,56	43,33	5,56
E13	45,83	39,88	14,29	0	55,95	29,76	14,29	0

Dados Psicológicos			
Codigo	Inicial	Final	
C01	fase resistência	fase resistência	INALTERADO
C02	sem estresse	sem estresse	INALTERADO
C03	sem estresse	sem estresse	INALTERADO
C04	fase quase exaustão	fase quase exaustão	INALTERADO
C05	sem estresse	sem estresse	INALTERADO
C06	fase resistência	fase resistência	INALTERADO
C07	fase quase exaustão	fase exaustão	PIORA
C08	sem estresse	sem estresse	INALTERADO
C09	fase resistência	fase resistência	INALTERADO
C10	sem estresse	fase resistência	PIORA
C11	fase resistência	fase alerta	MELHORA
C12	sem estresse	sem estresse	INALTERADO
C13	sem estresse	sem estresse	INALTERADO
E01	fase quase exaustão	fase quase exaustão	INALTERADO
E02	fase resistência	sem estresse	MELHORA
E03	sem estresse	sem estresse	INALTERADO
E04	fase quase exaustão	fase resistência	MELHORA
E05	sem estresse	sem estresse	INALTERADO
E06	sem estresse	sem estresse	INALTERADO
E07	sem estresse	sem estresse	INALTERADO
E08	fase resistência	sem estresse	MELHORA
E09	fase quase exaustão	sem estresse	MELHORA
E10	fase resistência	sem estresse	MELHORA
E11	fase quase exaustão	fase quase exaustão	INALTERADO
E12	fase resistência	fase resistência	INALTERADO
E13	fase resistência	sem estresse	MELHORA

Codigo	Dados Cortisol		TGF- β		IL-4		IL-6		IL-8		IL-10	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
C01	0,06	0,59	0	2,88	60,45	22,71	5,93	18,28	332,77	364,68	4,18	2,39
C02	0,16	0,22	0	2,88	12,05	0	3,43	3,18	396,9	356,1	3,54	7,34
C03	0,43	0,37	0	0	38,88	36,61	2,2	22,04	261,13	168,12	4,56	39,99
C04	0,27	0,21	0	0	0	8,64	4,31	5,75	158,93	171,43	0	1,65
C05	0,84	0,29	0	0	12	27,62	1,22	10,48	326,38	216,73	61,06	21,45
C06	0,16	0,1	0	0	0	26,96	9,51	3,76	181,14	130,94	6,08	3
C07	0,32	0,18	0	0	1,32	13,97	2,48	3,06	211,46	278,74	0,49	1,74
C08	0,34	0,15	0	0	0	0	4,86	3,54	250,75	161,34	11,12	1,74
C09	0,24	0,16	0	0	0	0	5,65	3,61	350,16	217,78	0,61	0,7
C10	0,36	0,24	0	0	34,33	50,41	3,94	6,88	382,29	268,06	21,63	4,36
C11	0,34	0,2	0	0	2,14	30,24	2,9	9,08	165,86	287,47	0,06	0
C12	0,45	0,42	0	0	31,76	25,87	3,39	8,83	331,42	143,35	4,38	2,96
C13	0,24	0,18	0	0	25,79	27,06	4,68	25,52	231,11	194,91	16,39	10,24
E01	0,51	0,25	0	0	9,86	9,52	2,2	5,84	479,08	406,75	1,49	7,71
E02	0,66	0,24	0	0	5,57	8,27	0,96	1,99	526,11	552,45	0	0,34
E03	0,73	0,63	0	0	4,63	16,97	2,12	4,19	421,65	3,46	0	1,28
E04	0,74	0,37	0	0	9,37	6,24	4,49	6,14	489,31	542,82	5,26	9,69
E05	0,77	0,67	0	0	10,6	24,88	3,21	5,32	479,08	479,08	4,18	6,26
E06	1,46	0,77	0	93,6	5,01	14,2	0,97	1,74	479,08	614,99	0,79	2,37
E07	0,71	0,43	0	0	6,89	6,05	0,83	0,83	436,25	420,3	0	0,77
E08	0,69	0,27	0	18,16	2,75	9,04	8,99	3,73	389,9	424,51	6,35	9,6
E09	0,45	0,4	0	0	2,94	5,54	3,18	2,2	271,29	65,77	7,07	2,28
E10	0,68	0,62	54,45	0	0	8,67	20,66	4,34	562,39	442,5	5,62	2,91
E11	0,65	0,78	0	268,39	31,96	11,1	2,42	2,02	543,27	165,48	0,94	8,25
E12	1,16	0,99	0	0	3,15	6,09	92,4	3,45	570,74	492,77	0,52	0,58
E13	0,71	0,55	0	0	10,06	20	18,52	2,97	471,4	602,95	1,51	2,73

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru

Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
PABX (0XX14)3235-8000 – FAX (0XX14)3223-4679

Comitê de Ética em Pesquisa (14)3235-8356
mferrari@fob.usp.br

Processo nº 107/2010

Bauru, 16 de novembro de 2010.

Senhor Professor,

Informamos que após o envio da documentação solicitada referente ao projeto de pesquisa encaminhado a este Comitê de Ética em Pesquisa **Avaliação quantitativa das citocinas IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 e TGF-B presentes na saliva de pacientes com periodontite, antes e após a submissão à psicoterapia: análise comparativa com pacientes controles**, de sua autoria, foi novamente analisado e considerado **APROVADO ad referendum** deste Colegiado, nesta data.

Solicitamos que ao término do trabalho, seja enviado a este Comitê um relatório final para novo parecer, o qual será utilizado para publicação científica.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Flávio Augusto Cardoso de Faria

Coordenador

Prof. Dr. Sebastião Luiz Aguiar Gregghi
Docente do Departamento de Prótese